



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

---

---

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES SOBRE LOS RECURSOS  
NATURALES**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA INTEGRATIVA**

**RESPUESTA QUIMIOSENSORIAL Y ASPECTOS REPRODUCTIVOS EN  
DOS ESPECIES SIMPÁTRICAS DEL GÉNERO *CONOPSIS*  
(SERPENTES: COLUBRIDAE)**

**TESIS**

**QUE PRESENTA:**

**BIÓL. ERNESTO RAYA GARCÍA**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRO EN  
CIENCIAS EN ECOLOGÍA INTEGRATIVA**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**M.C. JAVIER ALVARADO DÍAZ**

**MORELIA, MICHOACÁN, FEBRERO, 2016**





UNIVERSIDAD MICHOCANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA INTEGRATIVA



DR. EDUARDO MENDOZA RAMÍREZ  
COORDINADOR DEL PROGRAMA  
P R E S E N T E

Por este conducto nos permitimos comunicarle que después de haber revisado el manuscrito final de la Tesis Titulada: “Respuesta quimiosensorial y aspectos reproductivos en dos especies simpátricas del género *Conopsis* (Serpentes: Colubridae)” presentado por el Biol. Ernesto Raya García, consideramos que reúne los requisitos suficientes para ser publicado y defendido en Examen de Grado de Maestro en Ciencias.

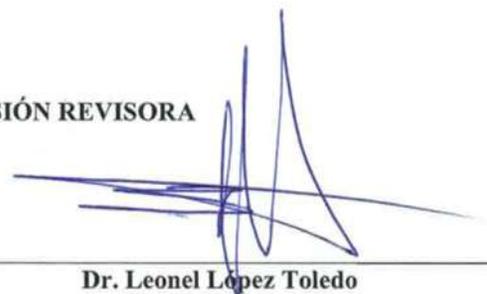
Sin otro particular por el momento, reiteramos a usted un cordial saludo.

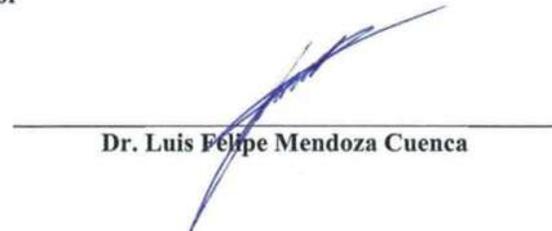
A T E N T A M E N T E

Morelia, Michoacán, a 11 de febrero de 2016

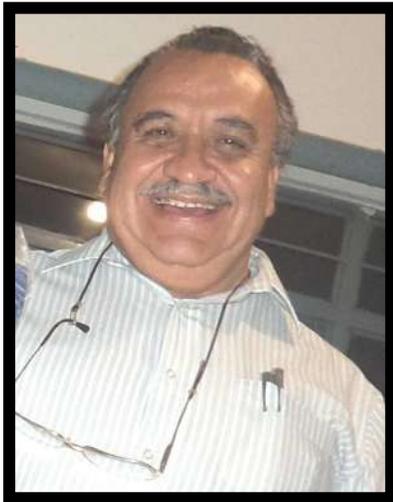
MIEMBROS DE LA COMISIÓN REVISORA

  
M.C. Javier Alvarado Díaz  
Director

  
Dr. Leonel López Toledo

  
Dr. Luis Felipe Mendoza Cuenca

*DEDICADA A LA MEMORIA DE:*



**Dr. Alfredo Raya López**  
(1948-2013)



**Dra. María Raya López**  
(1959-2008)

*De quienes recibí sincero apoyo al igual que palabras  
cálidas de aliento e impulso durante el desarrollo de mi  
vida académica y profesional.*

*Tíos, Muchas Gracias!*

## **AGRADECIMIENTOS:**

A mi segunda casa de estudios el Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales (INIRENA) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMNSH) y al Posgrado en Ciencias en Ecología Integrativa (MCEI) por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo económico (305243) durante los cuatro periodos escolares. Así como el apoyo económico en modalidad beca mixta (290936) recibido para mi estancia en el extranjero.

Al Programa Integral de Fortalecimiento Institucional (PIFI) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) por el apoyo otorgado para realizar mi estancia en el extranjero.

Al Consejo Superior de Investigación Científica (CSIC) y al Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN) de Madrid, España por las facilidades otorgadas para realizar mi estancia de investigación en su país.

A la estación de investigación biológica “El Ventorrillo” del Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN) de Madrid, España. Por brindarme hospedaje y recursos humanos durante mi estancia de investigación.

A los miembros del comité revisor:

M.C. Javier Alvarado Díaz

Dr. Leonel López Toledo

Dr. Luis Felipe Mendoza Cuenca

Quiero agradecer marcada e infinitamente a mi hermosa novia Melina Soria Pérez por todo su amor, cariño y apoyo recibido en los días buenos, malos e incluso difíciles. Es a ella a quien yo le dedico este gran logro y éxito académico, así como los que faltan por venir. Porque eres fuente de inspiración y aliento que le da sentido a mi vida. Admiro tu paciencia conmigo y aunque fue difícil la distancia quiero que sepas que sin ti a mi lado no lo hubiera logrado. !!TE AMO MUCHO!! Gracias por todo lo que haces por mí, eres la mejor novia que nunca imagine poder encontrar.

A mis padres Fernando Raya López y Reina García Méndez por permitirme seguir tomando un poco más de su techo y comida. Por su ayuda y apoyo dentro de sus limitadas posibilidades, pero sobre todo por su sincero amor y cariño.

Mi más sincero y profundo agradecimiento a mi director de tesis M.C. Javier Alvarado Díaz por permitirme el honor de ser uno más de sus estudiantes y depositar su confianza en mí. Gracias profe por todo el apoyo y conocimientos compartidos a lo largo de este y otros tiempos y por haberme dado un adecuado seguimiento durante este proyecto.

Al Dr. Leonel López Toledo por ser uno de mis revisores de tesis y por ser un excelente profesor de estadística, gracias a lo cual pude aprender mucho. Gracias también por darme seguimiento como alumno-amigo y por brindarme ayuda desinteresada en todo momento.

Al Dr. Luis Felipe Mendoza Cuenca por aceptar formar parte de mi comité revisor, pero sobre todo por sus atinados comentarios y sugerencias para mejorar la calidad de este trabajo de investigación.

A la Dra. Esperanza Meléndez Herrera por su apoyo y conocimientos brindados. Por su trato amable y humano al igual que sus sugerencias y comentarios.

Al coordinador de la maestría Dr. Eduardo Mendoza Ramírez por todas las facilidades otorgadas y por ser una persona amable y sincera en todo momento, también por ser un buen profesor e investigador de quien aprendí mucho. Gracias por darme siempre

seguimiento y no dejarnos solos a mis compañeros y a un servidor. Estoy seguro que todos juntos aprendimos mucho de esta primera aventura de la maestría.

A los investigadores Dr. José Martín Rueda y su esposa la Dra. Pilar López por permitirme hacer una estancia de investigación en su laboratorio y poder desarrollar nuestro propio proyecto. Gracias por todas las facilidades, colaboración y conocimientos compartidos.

A la Dra. Ileri Suazo Ortuño coordinadora de los estudios de posgrado de la UMSNH, por invitarme a representar a mi posgrado y compartir mi experiencia en el extranjero durante la producción de un programa de radio.

A Martín Sosa Reyes, Rodrigo Molina Correa y Oscar Medina Aguilar por coleccionar y facilitarme algunos individuos de las especies de serpientes que utilice durante mi estudio.

A Jerónimo Hernández por haber atendido y cuidado de mis pequeñas serpientes mientras me encontraba lejos haciendo mi estancia.

A Saúl González de la Luz por su actitud de cortesía y servicio en todo momento, por ayudarme con los inconvenientes técnicos del sistema y arreglar otros más. Gracias.

A tres de mis mejores amigos Luis Fernando Martínez García, Oscar Ávila Morales y Jorge Nieto Sánchez por su valiosa y sincera amistad. Gracias por estar conmigo y acompañarme nuevamente, por su inquebrantable camaradería y por la virtud de honor y nobleza que demuestran día con día.

Por último quiero agradecer a todos mis compañeros del laboratorio de herpetología, personal administrativo y de docencia del INIRENA, así como a todas las personas que de alguna u otra manera mantuvieron el interés de orientarme en cuestiones técnicas y científicas para que este trabajo alcanzara dentro de lo posible la mejor calidad profesional.

## ÍNDICE DE CONTENIDO:

<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I. CHEMICAL CUES AND PREDATORY BEHAVIOR ECOLOGY OF SNAKES: A REVIEW</b> .....	2
RESUMEN .....	3
Introduction .....	4
Chemosensorial component of predatory behavior .....	6
Prey-predator communication: snakes and molecules .....	9
The role and importance of prey chemical information .....	11
Measuring snake response .....	13
Literature Cited .....	15
<b>CAPÍTULO II. DISCRIMINACIÓN QUÍMICA DE PRESAS COMO INDICADOR DE PREFERENCIA EN DOS SERPIENTES SIMPÁTRICAS DEL GÉNERO <i>CONOPSIS</i></b> .....	31
RESUMEN .....	32
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	33
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	36
2.1. Respuesta quimiosensorial en especies de serpientes acuáticas .....	36
2.2. Respuesta quimiosensorial en especies de serpientes venenosas .....	38
2.3. Respuesta quimiosensorial en especies de serpientes de hábitos nocturnos .....	40
2.4. Respuesta quimiosensorial en otras especies de serpientes .....	42
2.5. Respuesta quimiosensorial en serpientes simpátricas .....	43
2.6. El concepto “preferencia” .....	43
2.7. Sujetos de estudio: <i>Conopsis biserialis</i> y <i>C. nasus</i> (Serpentes: Colubridae) .....	44
2.7.1. <i>Conopsis biserialis</i> (Taylor y Smith, 1942) .....	45
2.7.2. <i>Conopsis nasus</i> (Günther, 1858) .....	46
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	48
3.1 Objetivo general .....	48
3.2 Objetivos particulares .....	48
3.3 Hipótesis .....	48

<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	49
4.1 Colecta y mantenimiento de los sujetos de estudio .....	49
4.2 Tipos de presa .....	50
4.3 Elaboración de los estímulos químicos .....	50
4.4 Desarrollo del experimento (diseño experimental para PCD) .....	51
4.5 Intensidad de la respuesta quimiosensorial .....	53
4.6 Conducta alimentaria .....	54
4.7 Efecto de la dieta sobre PCD .....	55
4.8 Análisis estadístico .....	57
<b>5. RESULTADOS</b> .....	59
5.1. Clases de tamaños (edad) de las serpientes .....	59
5.2. Respuestas interespecíficas durante la Discriminación Química de Presas (PCD) .....	60
5.3. Respuestas intraespecíficas durante la Discriminación Química de Presas (PCD) .....	64
5.3. Intensidad de la respuesta predatoria .....	66
5.4. Conducta alimentaria .....	67
5.4.1. Grillos .....	67
5.4.2.1. Gusano de la cera (oruga) .....	68
5.5. Efecto de la dieta .....	70
<b>6. DISCUSIÓN</b> .....	72
6.1. Percepción química de presas .....	72
6.2. Discriminación química de presas .....	73
6.5. Dieta e identificación química en <i>Conopsis</i> .....	75
6.3. Conducta alimentaria .....	78
6.4. Efecto de la dieta sobre la respuesta quimiosensorial .....	80
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	82
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	83
<b>LITTER SIZE AND RELATIVE CLUTCH MASS OF THE EARTHSNAKES <i>CONOPSIS BISERIALIS</i> TAYLOR AND SMITH, 1942, AND <i>C. NASUS</i> GÜNTHER, 1858 (SERPENTES: COLUBRIDAE) FROM THE CENTRAL MEXICAN TRANSVOLCANIC AXIS</b> .....	95

Abstract.....	95
Acknowledgements.....	99
References .....	99
<b>DISCUSIÓN GENERAL.....</b>	<b>104</b>

### ÍNDICE DE FIGURAS:

<b>Fig.1.</b> Current relative number of researches and species into main chemosensory predatory behavior in snakes .....	27
<b>Fig.2.</b> Relative proportion in family snakes of 88 total species researched in at least some chemosensory predatory behavior. ....	28
<b>Fig.3.</b> Relative proportion in family snakes of 160 total research articles of chemosensory predatory behavior.....	28
<b>Fig. 4.</b> Trends in researches of chemosensory predatory behavior in snakes in the last 55 years (1960-2015).....	29
<b>Fig. 5.</b> Structure of the vomeronasal organ. ....	29
<b>Fig. 6.</b> Flow diagram of the action factors during the chemosensorial predation by snakes. ....	30
<b>Fig. 7.</b> Distribución en México de dos serpientes endémicas y simpátricas del género <i>Conopsis</i> .....	<a href="#">47</a>
<b>Fig. 8.</b> Diseño experimental para el desarrollo de las pruebas de reconocimiento químico de presas.....	<a href="#">52</a>
<b>Fig. 9.</b> De izquierda a derecha juvenil y adulto de <i>C. biserialis</i> y de derecha a izquierda adulto y juvenil de <i>C. nasus</i> . ....	60
<b>Fig. 10.</b> Correlación negativa y significativa entre dos conductas de quimiorrecepción de <i>Conopsis biserialis</i> .....	60
<b>Fig. 11.</b> Correlación negativa y significativa entre dos conductas de quimiorrecepción de <i>Conopsis nasus</i> .....	60

<b>Fig. 12.</b> Gráfica que representa las extrusiones linguales dirigidas (promedio $\pm$ error estándar) por la serpiente <i>C. biserialis</i> en respuesta a estímulos químicos de presas de vertebrados e invertebrados .....	62
<b>Fig.13.</b> Gráfica que representa las extrusiones linguales dirigidas (promedio $\pm$ error estándar) por la serpientes <i>C nasus</i> en respuesta a estímulos químicos de presas de vertebrados e invertebrados.....	62
<b>Fig. 14.</b> Gráfica que representa la comparación general de la conducta de extrusiones linguales dirigidas por ambas especies de serpientes.....	62
<b>Fig. 15.</b> Gráfica que representa el período de latencia (promedio $\pm$ error estándar) por las serpientes <i>C. biserialis</i> en respuesta a estímulos químicos de presas de vertebrados e invertebrados .....	63
<b>Fig. 16.</b> Gráfica que representa el período de latencia (promedio $\pm$ error estándar) por las serpientes <i>C. nasus</i> en respuesta a estímulos químicos de presas de vertebrados e invertebrados .....	63
<b>Fig. 17.</b> Gráfica que representa la comparación general de la conducta de período de latencia por ambas especies de serpientes .....	63
<b>Fig. 18.</b> Gráfica que representa las extrusiones linguales dirigidas (promedio $\pm$ error estándar) por las serpientes juveniles (barras grises) y adultas (barras cafés) de la especie <i>C. biserialis</i> .....	64
<b>Fig. 19.</b> Gráfica que representa el período de latencia (promedio $\pm$ error estándar) por las serpientes juveniles (barras grises) y adultas (barras cafes) de la especie <i>C. biserialis</i> .....	64
<b>Fig. 20.</b> Gráfica que representa la relación entre el tamaño (cm) y el número de extrusiones linguales (lengüetos dirigidos) por cada especie <i>Conopsis</i> hacia los estímulos químicos de invetebrados. ....	65
<b>Fig. 21.</b> Gráfica que representa las comparaciones del índice de intensidad predatoria (TFAS R) $\pm$ error estándar en las dos especies de serpientes del genero <i>Conopsis</i> .....	66
<b>Fig. 22.</b> Imagen de una hembra <i>C. nasus</i> alimentándose de un grillo .....	69
<b>Fig. 23.</b> Imagen de una hembra de <i>C. biserialis</i> alimentándose de una oruga .....	69

**Fig. 24.** Individuo adulto *C. biserialis* atacando un hisopo de algodón impregnado con estímulos químicos de grillo ..... [71](#)

### ÍNDICE DE TABLAS:

**Table 1.** Main molecules of prey involved in the predatory behavior of some snakes ..... 30

**Tabla 2.** Comparaciones morfológicas entre adultos y juveniles de las dos especies. .... 59

**Tabla 3.** Resultados estadísticos del modelo lineal generalizado (GLM) usado para analizar las extrusiones linguales dirigidas y el período de latencia en las serpientes *C. nasus* ..... 65

**Tabla 4.** Datos de la conducta de alimentación de *Conopsis biserialis* y *Conopsis nasus* ... 69

**Tabla 5.** Valores y resumen estadístico de las conductas “Tongue-Flick Attack Score” (TFAS(R)), número de lengüeteos (TF’s), período de latencia (LP) y número de mordidas (Attacks) de la serpiente *Conopsis biserialis* alimentada con dos tipos de presas . .... 71

## INTRODUCCIÓN GENERAL

La comunicación en los animales (zoosemiótica) es indispensable para entender muchos aspectos de su comportamiento social o individual (Sebeok, 1969), como la defensa del territorio (Gese, 2001; Camfield, 2006), la elección de pareja y reproducción (Swaigood et al., 2002) la orientación (Burghardt, 1970), el forrajeo (Weissburg et al., 2002), o comportamiento antidepredador (Head et al., 2002).

Algunas adaptaciones para los requerimientos de forrajeo han moldeado capacidades sensoriales en los animales de formas interesantes y a veces espectaculares (Cooper 2008), incluyendo la evolución de la ecolocalización de los murciélagos, la detección de infrarrojos en vipéridos, así como la ubicación de las presas mediante el uso de señales químicas a través de extrusiones linguales en muchos reptiles con modos de forrajeo activo o al acecho (Cooper 2008).

Frecuentemente los patrones de conducta predatoria en las serpientes se manifiestan en respuesta a estímulos químicos (Burghardt 1970, Chiszar et al. 1981, Halpern 1992, Mason 1992, Cooper 2008, Saviola et al. 2010). Las respuestas quimiosensoriales de los reptiles depredadores de la clase squamata han jugado un papel central en nuestra comprensión de las conductas de depredación y reconocimiento de presas (Clark y Ramírez 2011), son de interés teórico y contribuyen a los esfuerzos de conservación en cautiverio de muchas especies amenazadas.

Otros aspectos de su conducta y fisiología como lo es la reproducción, son procesos poco conocidos en la biología de muchas serpientes como *Conopsis biserialis* y *C. nasus* que son dos pequeños colúbridos endémicos del centro y sur de México y del centro y norte de México, respectivamente (Goyenechea y Flores-Villela 2006). Se sabe que ambas especies son vivíparas, que el apareamiento tiene lugar en madrigueras debajo de piedras (Greene 1997) y que se produce en el verano para *C. biserialis* (Fitch 1970) y en octubre y noviembre para *C. nasus* (Greer 1966). Esta tesis aborda por un lado una investigación sobre la conducta predatoria de *Conopsis biserialis* y *C. nasus* bajo condiciones de cautiverio y por otro lado provee la descripción de algunas características de su reproducción, donde se actualiza la información sobre los datos existentes y limitados de su tamaño y masa relativa de camada.

## CAPÍTULO I

### **CHEMICAL CUES AND PREDATORY BEHAVIOR ECOLOGY OF SNAKES: A REVIEW**

*“Small-brained animals which are the vast majority of land animals, tend to use the simplest set of tracks available to guide them through life”*

Edward O. Wilson (Letters to a Young Scientist, 2013)

**RESUMEN:**

Son ampliamente conocidas las múltiples capacidades sensoriales de muchas serpientes para detectar, encontrar, capturar y elegir su alimento. Particularmente las habilidades quimiorreceptivas son muy desarrolladas en las serpientes, pero comparativamente poco ha sido comprendido sobre estas conductas predatorias en relación a la ecología química y conservación de este grupo de vertebrados. Revisamos una amplia literatura que describe y evalúa los comportamientos predatorios frecuentemente influenciados por componentes químicos de las presas y consideramos la importancia ecológica y funcional de estos comportamientos, así como su apropiada investigación con objetivos de manejo y conservación para las familias y especies amenazadas poco conocidas. De ciento sesenta artículos publicados se reportan cinco principales conductas quimiosensoriales muy importantes durante el proceso ecológico de depredación por serpientes. Ochenta y ocho especies de siete familias estuvieron representadas de las cuales colúbridos, víboras y serpientes acuáticas son los grupos más estudiados y caracterizados. Es destacada la existencia de la función y variación en las conductas predatorias de varias serpientes debido a múltiples factores, pero principalmente debido a la naturaleza de los compuestos químicos presentes en sus presas. Las técnicas y metodologías para medir las conductas predatorias químicas son sugeridas y argumentadas. La investigación en conducta animal y ecología química desarrollada con serpientes acuáticas en la década los años 60 nos permite explorar por último las tendencias y sugerir futuras investigaciones.

**Palabras clave:** conducta, serpientes, químicos, presa, depredación.

**ABSTRACT:**

It is widely known the multiple sensory capacities of many snakes to detect, find, capture and choose their food. Particularly the chemosensory abilities are very developed in snakes, but comparatively little has been understood the predation behaviors in relation to chemical ecology and conservation in this group of vertebrates. We review a wide literature that describes and evaluates predatory behaviors commonly influenced by prey chemical components and we consider the ecological and functional importance of these behaviors, as well as its suitable research with aims of management and conservation for families or threatened species and little known. Of hundred sixty published articles yielded in five main chemosensory behaviors highly important in the predation ecological process by snakes. Eighty eight species of seven families were represented of which colubrid, pitvipers and water snakes are the groups more researched and characterized. It emphasizes the existence of function and variation in predatory behaviors of several snakes due to multiple factors but mainly due to the nature of prey chemical compounds. The techniques and methodologies to measure chemical predatory behaviors are suggested and argument. The research in behavior and chemical ecology developed and began with water snakes in the 60s decade enables us to explore the tendencies and suggest future research.

**Key words:** behavior, snakes, chemicals, prey, predation.

## **Introduction**

There is no living creature on earth that does not emit communication signals with its surrounding environment, with their conspecifics or other biological entities (Norris, 1981; Witzany, 2014). Biological process like the communication is important to understand the information that generally defined behavior patterns in living organisms (McGregor, 2005). Communication in animals (zoosemiotics) is essential to understanding many aspects of their individual or social behavior (Sebeok, 1969), defense of territory (Gese, 2001; Camfield, 2006), mate choice and reproduction (Swaigood et al., 2002) orientation (Burghardt, 1970), foraging (Weissburg et al., 2002) and antipredator behavior (Head et al., 2002). Certainly the communication has evolved over millions of years and has been perfected in its different modalities (visual, chemical, thermal, acoustic) for specific groups of animals in order to solve several ecological demands and obtain optimum levels fitness (Searcy and Nowicki, 2005).

The chemical communication is a process highly effective used for many taxas in animal kingdom due to the large number of links and interactions that can elicit (Wyatt, 2003). In fact, the quality of chemical signals is reflected by its qualities of high persistence in the environment, detailed and available information in habitats where other signals are impossible to receive (Wyatt, 2003). Some mechanisms used by vertebrates to recognize chemical signals have important implications in different ecological processes (Polis and Strong, 1996). Generally the predators tend to use chemical signals for recognize and locate their prey, since these allow indirect information transfer between transmitter and receiver (by odorous marks), so that for many species the chemical signals are the main communication mode (Font et al., 2010).

Snakes are one of the better terrestrial predators in the wild, all species of snakes use and emit chemicals and other cues in their environment to communicate with other living beings and develop adaptive behaviors that allow them to hunt their prey, evading predators and reproduce, in other words, the variety of behaviors elicited by chemicals are the result of evolutionary processes that have been able to improve highly levels of fitness in snakes (eg. Radcliffe et al., 1980; Arnold, 1981; Drummond and Macias-García, 1995). The daily problems faced by snakes, such as the detection of prey, orientation, or

recognition of predators and con-specific frequently require the ability to sense chemical signals from the environment (Mason, 1992). This problematic has been approached in different case studies with the analysis and description of chemoreception behaviors and chemical ecology (eg. Mason, 1993; Greene et al., 2001; Pernetta et al., 2009; Jackrel and Reinert, 2011; Scott et al., 2013; Smith et al., 2015).

There is ample information and evidence of chemical effect in predator behaviors of specific taxa like natricids, viperids and colubrids in North America and some elapids in Australia and among other groups (Fig. 2). However the knowledge of chemical communication in snakes and their relationship with ecological processes such as predation is limited and unknown in many other families and species with different habits life (i.e., arboreal, fossorial, marine), lack of knowledge of its natural history and with restrict population in their geographical distribution. Describe these interactions helps improve maintenance management strategies and plans for future conservation of threatened species (Weldon et al., 1994; Saviola et al., 2011).

The snakes are one of many predators responsible to regulating populations of prey vertebrate and invertebrate (Vitt and Vangilder, 1983; Mushinsky, 1987), some species are indicators of habitat quality (Beaupre and Douglas, 2009) and important prey for other predators (Aloise et al., 2010). This maintains the chemical cycle of energy and the trophic interactions that maintain functioning ecosystems (Voris, 1972; Polis, 1991). Therefore, the obvious functional ecology of snakes allow them to be excellent models of research in chemosensory predator behaviors like prey chemical discrimination (Weaver et al., 2012), strike-induced chemosensory searching (Chiszar, 1982b) poststrike elevation in tongue-flicking (O'Connell et al., 1981) and selection of ambush-foraging sites (Clark, 2004). These data provide robust information used to understand the interactions prey-predator and compare and the different strategies used by various species of snakes during their activities of search and food capture.

In this paper we present a review with the aim of (1) integrate and synthesize relevant information about the predatory behaviors in snakes elicited by chemical cues. (2) Update our comprehension about properties, function and effect of chemical signals on the most common foraging responses in the ophidian class with emphasis on predation patterns. (3) Examine the techniques and equipment used during behavioral measurements

in snakes and (4) examine the potential ecological role of chemical signals within the interactions prey-predator in snakes, identifying information gaps for guide future research agendas. For this we reviewed a total of 160 articles covering almost six decades of information. This sample represents the majority of indexed articles in the Web of Science, using “chemical snakes” and “predator behavior” as search strings.

This review is divided into five sections. In section one present a discussion on the use of snakes in the field of science of animal behavior as well as exploring some of the most studied stereotyped behaviors in this group of reptiles. In section two we present information that further explains the process of chemical communication in snakes and the nature and function of some molecules involved in the conduct of snakes. In section three we present an analysis of the role of chemical signals that are relevant to the processes of predation in different groups of snakes. In section four we present a discussion and analysis of the different methods used for measuring chemosensory behavior in snakes and a possible future scenario in research behavior with snakes.

### **Chemosensorial component of predatory behavior**

The real stage of the study on predator behavior of snakes began in the 1960s’and since then has increased constantly, which has been the basis for the classification of a wide variety of behavior patrons commonly used for foraging biological functions. This situation currently positioned to snakes as excellent models to measure behavior, like other vertebrate groups such as birds, fish and mammals. Important architects in behavioral ecology of snakes like Burghardt, Chiszar, Cooper, Clark, Kardong, Shine, Webb among others have constructed the herpetological pillars of the current knowledge about the predatory behavior of snakes. Burghardt is the forerunner of a new age in studies of predatory behavior of snakes and their first contributions were part of his doctoral thesis. Pioneer studies such as those allowed establish the base ethological of snake behavior and this led to new research questions about the unexplored behavior of these animals, thereby opening a new field of study in herpetology for future generations.

Some groups of snakes use mainly visual cues to identify their prey, because most have well-developed compound eyes to capture visual information in their environment (Drummond, 1985). However, although the visual cues are important to guide most

activities in snakes (Carpenter and Ferguson 1977), studies of chemical communication by signals (substances) of different composition and effects of action have shown the importance physiological and behavioral processes in another many group snakes (Chiszar et al., 1982b; Mason, 1992; Cooper, 2008). Chemistry stimulation is important for snakes during their periods search prey and specific chemicals tend to initiate hunting behavior among many species (Burghardt, 1967; Chiszar et al., 1995; Saviola et al., 2012). In some situations there are interactive effects of both signals (Chemical y visual) during the stimulation of the vomeronasal chemoreception (Chiszar et al., 1981; Terrick et al., 1995; Shivik, 1998). Recent research find that the chemosensory response (vomeronasal) of some species of snakes is mainly activated by chemical signals (scent), while other species respond preferentially to visual cues (Saviola et al., 2011, 2012), this suggests that a likely reason for the results is the type of prey (ectotherms or endotherms) of this snakes.

From Burghardt (1970) work, are better understood the prey chemical perception (PCP) in snakes under specific and multiple context, as well as their chemical preferences to different types of prey, this behavior is known as prey chemical discrimination (PCD). Therefore this discrimination is subject in some cases to genetic constraints, strongly marked by the natural diet of each species (Alrnold, 1980). However, the innate components of this behavior in newborn snakes could be replaced or modified by the learning (Fuchs and Burghardt, 1971; Arnold, 1978) when it is set a food imprint at the time of ingesting the first prey by natural way (Burghardt and Hess, 1966) or induced under conditions of captivity (Loop, 1970). In any case, being innate or acquired this chemical preference for food, it is important emphasize the existence of a significant change in the behavior of snakes that may be susceptible to be molded by natural selection forces. This change in behavior is also influenced by other intrinsic biotic factors of each species such as the ontogenetic evolution in the life of some snakes, due to it has been shown that there is a prey chemical discrimination in different size class and age (Mushinsky and Lotz, 1980; Saviola et al., 2012) and even gender (Lyman and Burghardt, 1995), ie, intraspecific variation is greater in these behaviors due to differences in ecological requirements (eg. available prey) in many snake species during each stage of their life.

On the other hand there are other predatory behaviors that constitute a pattern and have the characteristic of integrating two or more behaviors. An example of this is a high the rate of

tongue-flicks and behavior search of prey that make up a pattern known as Strike-Induced Chemosensory Searching (SICS) (Chiszar et al., 1985). This pattern of behavior has been extensively studied in poisonous snakes such as rattlesnakes (Chiszar and Scudder, 1980), since after bite and envenom their potential prey, these are released voluntarily and can be located efficiently following chemical trails they have left on the road. The snake immediately after release increases the rate of lingual extrusions for locating previously poisoned prey (Kardong and Smith, 2002). This behavior is known as Poststrike Elevation in Tongue-Flicking (PETF) and is generally known to be an important component of SICS (Cooper, 1991a). In addition to rattlesnakes, SICS behavior pattern has been studied in other family snakes (Burghardt and Chmura, 1993), no poisonous snakes (Cooper et al., 1989; Cooper, 1991b), elapids (Chiszar et al., 1983) and other viperids non-rattlesnakes (Chiszar et al., 1985).

Just like SICS the post-strike trailing behavior (PTTB) of prey is a characteristic of general predator behavior of many viperids (Chiszar et al., 1982). Rattlesnakes have acute chemical trailing abilities for locating struck prey (Golan et al., 1982) by using airborne and substrate chemical cues (Parker and Kardong, 2005). It's widely known that can follow the trail of struck prey in open areas (Kardong and Smith, 2002) and discriminate between envenomated and nonenvenomated prey (Chiszar et al., 1999), even under the condition of different levels of complexity in experimental test (Furry et al., 1991). This behavior has been little studied in other family snakes like colubridae and natricidae (Waters, 1993; Stark et al., 2002). In blind-snakes is known his ability to find ants use trail-following to locate some potential ant prey species, the snakes are able of follow different time-old chemical trails old left by groups ants, but are apparently unable to follow trails left by single ants (Webb and Shine, 1992).

Many snakes are predators sit and wait and spend large amounts of time in the same shelter waiting for the passage or entrance unnoticed of preys to their ambush sites (Webb and Shine 1977). It has been demonstrated that chemical stimuli also have an effect on the behavior selection of ambush-foraging sites (Du et al., 2009). Select chemically those refuge optimal sites that may provide opportunities to capture prey for several weeks is an advantageous feature for several snakes (Downes, 1999). Rattlesnakes can selected chemically strategic ambush sites (Duvall et al., 1990; Clark, 2004), cottonmouth pit vipers

(Eskew et al., 2009) elapids (Downes, 1999), natricids (Weaver and Kardong 2009) and practically null research of this behavior in colubrids and Leptotyphlopids families.

An global analysis of the total research of most common predatory behaviors in snakes influenced by chemical and cues revised previously (Fig.1) indicates a total of 160 scientific publications registered and previously selected of purged literature not related. Exist the proportionate participation of seven familys and 88 species involved in researches of at least some aspect of chemosensorial predatory behavior (Fig. 2,3). Moreover there is a clear relationship of increase in research studies in this area in the last 50 years, indicating a significant increase in research in the 70s and 80s decades, marking a record increase in the 2000 decade (Fig. 4). Currently the research in this integrated area of herpetology that involves aspects of behavioral ecology, ethology and animal comparative psychology has not stopped being scientifically explored, tentatively provides future scenarios and research agendas to evaluate many aspects of predatory behavior within a range of species of snakes unexplored (Fig. 1, 2).

Predator behavior studies on snakes are becoming more sophisticated and complete, incorporating information on analysis of the chemical components that manage census snakes prey and studying neurophysiological processes associated with the different components of this behavior (Martínez-Marcos et al., 2001; Smargiassi et al., 2012).

### **Prey-predator communication: snakes and molecules**

Since the discovery in 1813 of the vomeronasal organ in mammals (except humans) by the Danish anatomist Ludvig Levin Jacobson and the discovery and importance of his main chemoreception into snakes (Wilde, 1938) a wave of research shot up around called vomeronasal system especially in the group of reptiles, which allowed a better understanding of the physiological functions and behavior of these animals (Halpern, 1987; Schwenk, 1995; Rockhil-Alving and Kardong 1996). Therefore was evident recognize that snakes are vertebrate group with the most sophisticated and evolved vomeronasal system in the nature (Schwenk, 1993; Martinez-Marcos et al., 2001). The knowledge about histology and morphology snakes caused the interest to learn more about their ecology, natural history and behavior. Unfortunately, for a long time they were considered little astute,

antisocial and with a low range of animal behaviors compared with those so-called "superior animals" like birds and mammals (Font et al., 2010).

The snakes frequently manifest behavior patterns in response to chemical stimuli (Burghardt, 1970; Chiszar et al., 1981; Halpern, 1992; Mason, 1992; Cooper 2008; Saviola et al., 2010). These chemical signals are perceived through chemical sensors (Fig. 5), particularly the olfactory system and the vomeronasal organ (Burghardt 1968). In addition to the olfactory sensors in the nose, the tongue of snakes is also a detector of chemical components used to detect odors in the environment, which are then transferred to the vomeronasal system (Young, 1990; Halpern, 1992; Parker et al., 2008). Lingual extrusions in some snakes are activated by the detection of volatile chemical signals in the olfactory system and also by visual and thermal stimulation (Burghardt, 1970; Chiszar et al., 1981; Saviola et al., 2012). Therefore, the rate of extrusion lingual (RTF: Tongue Flicking Rate) is frequently used as a reliable measure of the response of a snake to any of these stimuli.

These non-volatile chemicals, currently known as semiochemicals (Koene and Maat, 2002), carrying a specific "message" that can be received by other individuals of the same or different species or during their interaction with the physical environment. In the context of predation it is better refer to them as allelochemicals which mediate interspecific relationships (Montemayor et al., 2000). The Kairomone are a class of allelochemical used by predators-receivers like snakes to obtain as benefit prey information (Brown et al., 1970). There are several studies on the chemical ecology in organisms such as snakes, which have focused on classifying and determining the role of the chemicals involved in the development of physiological, biological and behavioral processes (Mason et al., 1990; Wood et al., 1995). A group extensively studied in this respect is the water snakes of the genus *Thamnophis* (Luo et al., 1994). Extraction and purification techniques of chemoattractant proteins that elicit predation on frogs by garter snake *Thamnophis marcianus* have shown that these proteins are highly attractive vomeronasal stimuli for snakes and through which they can recognize their prey (Wattiez et al., 1994). Similarly, other species such as common garter snake *Thamnophis sirtalis* used glycoproteins chemoattractant secreted by the skin of earthworms (Burghardt et al., 1988), these components that have been isolated and purified to describe the transduction mechanisms of chemical information in snakes (Wang et al., 1988; Jiang et al., 1990). Some of the

biologically active components of worms and fish elicit greater chemosensory response and attacks of several species of *Thamnophis* because they exhibit very similar physical and chemical properties (Burghardt et al., 1988). It is necessary to recognize and identify the function of kairomones used by many species snakes to distinguish and discriminate between a number of different chemical stimuli of prey, in order to understand more about their ecology and behavior (Clark, 2004). However, the actual information on the chemoattractant factors that are used by other taxa or different groups of snakes is limited and restricted only to aquatic snakes (Table 1.). Develop knowledge in kinematics of tongue-flicks and strikes (Kardong and Bels, 1998; De Groot et al., 2004) coupled with the chemicals and physiological aspects within prey-predation relationships in snakes will help to integrate and steer the behavioral ecology to multiple conservation efforts in many species (eg. Caro, 2007; Weatherhead and Madsen, 2011).

### **The role and importance of prey chemical information**

During the research on foraging behavior in snakes it has been revealed the importance of chemical stimuli that incite in the first instance an increase in the rate of tongue flicks (RTF), followed by trailing behavior, an attack on prey or object and finally the swallowing of this. This pattern of behavior has been particularly described for water snakes of the genus *Thamnophis* (Burghardt, 1975; Halpern and Frumin, 1979; Kubie and Halpern, 1979). However there is another group both of biotic and abiotic factors which could influence in the predatory behavior of snakes (Fig. 6). These factors should be considered to evaluate its effect on the chemosensory abilities. In laboratory experiments the concentration and "age" of the chemical stimulus that elicit a response of interest or attack in *Thamnophis* snakes as well other factors such as the effects of prolonged periods of deprivation on the chemosensory response are discussed and analyzed by Burghardt and Hess (1968) and the temperature factor which undoubtedly has a direct influence on predator behavior in snakes (Stevenson et al., 1985).

It is a common misconception that snakes in general strictly guided all its activities based on chemical stimuli that can perceive its environment, conceiving snakes as biological entities obliged to depend on this chemical information. The reality is that not all snakes group's precedence greater importance to chemical signal nor maintain the same

sequence of use like the *Thamnophis* snakes. In this respect the most predatory strategy exemplified in the literature is carried out by rattlesnakes (*Crotalus* sp.) which precedence greater importance in the first instance to the visual and thermal signals to release a response that involves bite and poison to prey. This response in turn releases an increased rate of tongue flicks (chemosensory search) with which the snake develops a search that leads her to find and eat their prey previously poisoned (Chiszar et al., 1978, 1979).

The advantage of chemical stimuli on visual stimuli is that contain more specific information and some may stay and travel long distances to intercept with the appropriate receiver (Endler, 1993). Overall both signals (chemical and visual) are equally important for the snakes during their hunting episodes (Chiszar et al., 1981) therefore any two sensory modalities always be alternately used by all snakes.

Although the process of releasing a poisoned prey reduces the risk of a possible counterattack causing physical damage to the predator (Kardong and Smith, 2002). The venomous snakes have to solve the problems of prey relocation; this includes that prey escape outside the range of relocation of snakes because of their different lifestyles and availability of physical media in their habitat they use to escape (Kardong and Smith, 2002). When the prey travels long distances is impossible to detect visually or thermal stimuli and even the chemosearch activity of *Crotalus* snakes it could be blocked or confused with other potential prey stimuli or the presence of other chemicals in the environment compromising the final encounter between prey and predator (Kardong and Smith, 2002). However, rattlesnakes (*Crotalus*) have developed a great plasticity in the chemical detection of prey. Especially it is known that they can distinguish different classes of rodents and conditions such as adult individuals and hatchlings (Furry et al., 1991; Saviola et al., 2010) and individual humor mouse before of strike (Robinson and Kardong, 1991). This big acute ability to discriminate chemically prey and therefore to achieve locate them with small and subtle differences is retained for an extended period of time (Smith et al., 2000; Kardong and Smith, 2002).

Predators like snakes has shown that once depriving the function of your organ of Jacobson injuring his vomeronasal nerves, they do not attack their prey and are little interested in feeding (Wilde, 1938; Kubie and Halpern, 1979). This reveals the importance of chemical signals that are used by this organ-system for communication between prey and

predator. When deprived of the chemical supply to the vomeronasal organ (VNO) of rattlesnakes, the rate of bites decreases to 50% and is totally null finding prey (Kardong, 1992; Rockhil-Alving and Kardong, 1996), this suggests that the vomeronasal system (VNS) has no full equivalence or replacement in function with the olfactory system (OS). Therefore not reflect equally effective in the behavior due to the incapacity of OS in sensing specific chemical-information used only by organ Jacobson (Lohman and Smeets, 1993; Lanuza and Halpern, 1998; Kardong and Smith, 2002).

Other studies with snakes where they have been canceled the perception of visual and olfactory cues indicate that visual and olfactory systems are not indispensable for efficient predation because they can use the vomeronasal system (organ of Jacobson) to elicit a response attack on its prey (Burghardt and Hess, 1968). However, olfactory cues that are also of chemical composition are sensed by the nasal epithelium and apparently exhibit some degree of importance to search and locate prey and together with the vomeronasal system are the most important chemical receptors for snakes (Rockhil-Alving and Kardong, 1996). The advantage of the olfactory system (OS is its functionality as a long-distance receiver which snakes can sense prey odors and other chemical stimuli in the environment (Cowles and Phelan 1958).

### **Measuring snake response**

Chemosensory predator responses of many reptiles of squamata class have played a central role in our understanding of predator behaviors and prey recognition (Clark and Ramirez 2011). There are methodologies easy, fast and frequently standardized used to measure the response of snakes to several prey chemical cues.

A very common technique is the use of cotton tips of wooden applicators rubbed firmly over the surface of a living prey to get the chemical factors which are subsequently presented to snakes (Wilde, 1938; Burghardt, 1967; Arnold, 1980). There are multiple studies that use this technique to investigate the prey chemical preferences in snakes (Burghardt, 1970), the evaluation of genetic effects (Arnold, 1981; Burghardt, 1993), ontogenetic (Mushinsky and Lotz, 1980; Saviola et al., 2011) and phylogenetic on the chemoreception activity (Cooper, 2008).

However, in some situations it is not the most appropriate for all species of snakes (Cooper, 1998) therefore is necessary to use other techniques and experimental designs more appropriate to obtain more reliable results and avoid generating skewed results. Consequently, some researchers have used different methods to present prey chemicals to the snakes. The design of experimental arenas where the researcher presents on a mold or substrate the substances that contain chemical cues of interest to evaluate like habitat selection (Theodoratus and Chiszar, 2000; Bevelander et al., 2006; Weaver and Kardong, 2009), ambush foraging sites selection (Roth et al 1999; Clark, 2004), predator behavior (Chiszar and Scudder, 1980; Greenbaum, 2004), food preference (Aubret et al., 2006; LaBonte, 2008) or chemical discrimination of a group of different prey (Weaver, 2010; Weaver and Kardong 2010). There are few studies involving both methods in predator behavioral research with snakes (Clark and Ramirez, 2011). However, the appropriate method will depend on the research questions that seek to answer as well as the subject of study and a balance or trade-off between costs, risks, benefits, and control of variables that the researcher seek to establish.

In many situations several snake species response to chemicals in cotton applicators (swabs) through a series of extrusions lingual and in some cases the swab is biting, especially if it carries chemical stimuli of their preferred prey (Cooper and Burghardt, 1990). Therefore, it has been important to measure both the rate of lingual extrusions (Tongue-Flick Rate) and the latency period to bite. These are the two most fundamental variables for measure in squamata group and thereby understand the predatory behavior in many species. However integrating both variables is obtained as result an index. This index is commonly known as TFAS (Tongue-Flick Attack Score) developed by Burghardt (1967, 1970), which can indicate a strong response to prey chemical stimulus. This index has been a well standardized tool and highly successful for the study of abilities in prey chemical discrimination (prey odors) of many squamata reptiles (Cooper and Burghardt, 1990). The (TFAS) was prepared under the assumption that an attack or bite is a strong indicator of a predatory response than any number of tongue flicks as well as the latency will be lower due to the increase the strength of the stimulus (Burghardt 1970). This index has been slightly modified by Cooper and Burghardt (1990) for be used in research that has the need of involve the individual response to a series of chemical stimuli from multiple conditions.

Another index to measure the intensity of the predator chemosensory response is the index of Projection of Tongue Flicks Rate (PTFR) developed by Arnold (1978), which gives greater importance to the rate of extrusion tongue that bites. However, this index is arbitrary and presents some difficulties that have been previously discussed by Cooper and Burghardt (1990) therefore is not recommended for use in studies of chemical responses in reptiles.

Recently Smith et al. (2015) modifies the index TFAS and proposes a new metric to evaluate mainly predator behavior in snakes that incorporates investigative behaviors that may be unique to constrictor-type snakes. The index TFRS (Tongue-Flick Reaction Score) includes both positive behaviors like snout rubs as negative behaviors like retreating (Smith et al., 2015). This index functions similarly to TFAS by recording the interest of snakes, however adds a component of disinterest to express motor activity away from chemical stimulus (Smith et al., 2015). This newly proposed index it's a good choice to measure predator behavior in snakes like boids and pythons and another constrictor-type snakes.

The index TFAS has been a reference tool for measuring chemosensation behavior included in a number important of investigations within of ophidian and lizard class. It has been subjected to slight modifications to adapt it to different purposes (eg. Clark, 2004) which makes it a flexible and reliable index for various chemosensorial behaviors in snakes.

### Literature Cited

- Aloise, G., Mazzei, A., and Brandmayr, P. 2010. An attempted predation on a Four-lined snake *Elaphe quatuorlineata* (Lacépède, 1789) by a Common Buzzard *Buteo buteo* (Linnaeus, 1758). *Acta Herpetologica*, 5(1), 103-106.
- Arnold, S.J. 1978. Some effects of early experience on feeding responses in the common garter snake, *Thamnophis sirtalis*. *Anim. Behav.* 26:455-462.
- Arnold, S.J. 1980. The microevolution of feeding behavior. Pages 409-453 in A. C. Kamil and T. D. Sargent, eds. Foraging behavior: ecological, ethological and psychological approaches. Garland STPM Press, NY.
- Arnold, S.J. 1981. Behavioral variation in natural populations. I. Phenotypic, genetic and environmental correlations between chemoreceptive responses to prey in the garter snake, *Thamnophis elegans*. *Evolution* 35:489-509.

- Aubret, F., G.M. Burghardt, S. Maumelat, X. Bonnet and D. Bradshaw. 2006. Feeding preferences in 2 disjunct populations of tiger snakes, *Notechis scutatus* (Elapidae). *Behavioral Ecology* 17:716-725.
- Beaupre, S.J., Douglas, L.E. 2009. Snakes as indicators and monitors of ecosystem properties. In: Snakes. Ecology and Conservation, p. 244-261. Mullin, S.J., Seigel, R.A., Eds, Cornell University Press, Ithaca
- Beverlander, G., T.L. Smith, and K.V. Kardong. 2006. Microhabitat and prey odor selection in the foraging pygmy rattlesnake. *Herpetologica* 62:47-55.
- Brown WL, Eisner T, Whittaker R.H. 1970. Allomones and kairomones: transspecific chemical messengers. *BioScience* 20:21-22.
- Burghardt, G.M. 1967. Chemical cue preferences of inexperienced snakes: comparative aspects. *Science* 157: 718-721.
- Burghardt, G.M. 1968. Chemical preference studies on newborn snakes of three sympatric species of *Natrix*. *Copeia* 1968: 732-737.
- Burghardt, G.M. 1970. Chemical perception in reptiles. In: Johnston JW Jr, Moulton DG, Turk A (eds) *Communication by chemical signals*. Appleton-Century-Crofts, New York, pp 241-308.
- Burghardt, G.M. 1975. Chemical prey preference polymorphism in newborn garter snakes *Thamnophis sirtalis*. *Behaviour* 52:202-225.
- Burghardt, G.M. 1993. The comparative imperative: genetics and ontogeny of chemoreception in natricine snakes. *Brain Behav Evol* 41:138-46.
- Burghardt, G.M. and E.H. Hess. 1968. Factors influencing the chemical release of prey attack in newborn snakes. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 2: 289-295.
- Burghardt, G.M., and Chmura, P.J. 1993. Strike-induced chemosensory searching by ingestively naive garter snakes (*Thamnophis sirtalis*). *Journal of Comparative Psychology*, 107(1), 116.
- Burghardt, G.M., and E.H. Hess. 1966. Food imprinting in the snapping turtle, *Chelydra serpentina*. *Science* 151: 108-109.

- Burghardt, G.M., S.E. Goss and F.M. Schell. 1988. Comparison of earthworm- and fish-derived chemicals eliciting prey attack by garter snakes (*Thamnophis*). *Journal of Chemical Ecology*, 14:855-881.
- Camfield, A.F. 2006. Resource value affects territorial defense by Broad-tailed and Rufous humming birds. *J. Field Ornithol.* 2:120-125.
- Caro, T. 2007. Behavior and conservation: a bridge too far?. *Trends in ecology & evolution*, 22(8), 394-400.
- Carpenter, C.C., and G.W. Ferguson 1977. Variation and evolution of stereotyped behavior in reptiles. Part I. A survey of stereotyped reptilian behavioral patterns. En: *Biology of the Reptilia*. Gans y Crews (editores). New York: Academic press.
- Chiszar, D. 1978. Chemosensory searching for wounded prey by rattlesnakes, is released by striking: a replication report. *Herp. Review* 9: 54-56.
- Chiszar, D. Radcliffe, C.W., Overstreet, R., Poole, T., and Byers, T. 1985. Duration of strike-induced chemosensory searching in cottonmouths *Agkistrodon piscivorus* and a test of the hypothesis that striking prey creates a specific search image. *Can J. Zool.* 63:1057-1061.
- Chiszar, D., A. Walters, J. Urbaniak, H.M. Smith, and S.P. Mackessy. 1999. Discrimination between envenomated and nonenvenomated prey by Western diamondback rattlesnakes (*Crotalus atrox*): chemosensory consequences of venom. *Copeia* 1999:640-648.
- Chiszar, D., and Scudder, K.M. 1980. Chemosensory searching by rattlesnakes during predatory episodes, pp. 125-139, in D. Muller-Schwarze and R.M. Silverstein (eds.). *Chemical Signals: Vertebrates and Aquatic Invertebrates*. Plenum Press, New York.
- Chiszar, D., C. Andr n, G. Nilson, B. O'connell, J.S. Mestas, H.M. Smith, and C.W. Radcliffe. 1982 a. Strike-induced chemosensory searching in Old World vipers and New World pitvipers. *Anim. Learn. Behav.* 10:121-125.
- Chiszar, D., C.W. Radcliffe and H.M. Smith. 1978. Chemosensory searching for wounded prey by rattlesnakes is released by striking: a replication report. *Herpetol. Rev.* 9:54-56.

- Chiszar, D., G.H. Rodda y H.M Smith. 1995. Experiments on chemical control of behavior in brown tree snakes. National Wildlife Research Center Repellents Conference, Paper 8.
- Chiszar, D., L. Simonsen, C.W. Radcliffe and H.M. Smith. 1979. Rate of tongue flicking by water moccasins (*Agkistrodon piscivorous*) during prolonged exposure to various food odors; and, strike-induced chemosensory searching in the cantil (*Agkistrodon bilineatus*). *Trans. Kan. Acad. Sci.* 82:49-54.
- Chiszar, D., Radcliffe, C.W., O'connell, B., and Smith, H.M. 1982b. Analysis of the behavioral sequence emitted by rattlesnakes during predatory episodes. II. Duration of strike-induced chemosensory searching in rattlesnakes (*Crotalus viridis*, *C. enyo*). *Behav. Neural Biol.* 34:261-270.
- Chiszar, D., S.V. Taylor, C.W. Radcliffe, H.M. Smith, y B. O'Connell. 1981. Effects of chemical and visual stimuli upon chemosensory searching by Garter Snake and Rattlesnakes. *J. Herpetol.* 15: 415-424.
- Chiszar, D., Stimac, K. Poole, T. Miller, T. Radcliffe, C.W. and Smith, H.M. 1983. Strike Induced Chemosensory Searching in Cobras: (*Naja naja kaouthia*, *N. mossambica pallida*). *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 63: 51-62.
- Clark, R.W. 2004. Timber rattlesnakes *Crotalus horridus* use chemical cues to select ambush sites. *J. Chem. Ecol.* 30: 607–617.
- Clark, R.W. and G. Ramirez. 2011. Rosy boas (*Lichanura trivirgata*) use chemical cues to identify female mice (*Mus musculus*) with litters of dependent young. *Herpetological Journal* 21: 187-191.
- Cooper, W.E., JR. 1991a. Responses to prey chemicals by a lacertid lizard, *Podarcis muralis*: Prey chemical discrimination and poststrike elevation in tongue-flick rate. *J. Chem. Ecol.* 17:849–863.
- Cooper, W.E., JR. 1991b. Discrimination of integumentary prey chemicals and strike-induced chemosensory searching in the ball python, *Python regius*. *J. Ethol.* 9:9-23.
- Cooper, W.E., Jr. 1998. Evaluation of swab and related tests as a bioassay for assessing responses by squamate reptiles to chemical stimuli. *Journal of Chemical Ecology* 24, 841-866.

- Cooper, W.E., Jr. 2008. Tandem evolution of diet and chemosensory responses in snakes. *Amphibia-Reptilia* 29:393-398.
- Cooper, W.E., Jr. and Burghardt, G.M. 1990. A comparative analysis of scoring methods for chemical discrimination of prey by squamate reptiles. *Journal of Chemical Ecology* 16: 45-66.
- Cooper, W.E., JR., Mcdowell, S.G., and Ruffer, J. 1989. Strike-induced chemosensory searching in the colubrid snakes *Elaphe g. guttata* and *Thamnophis sirtalis*. *Ethology* 81:19-28.
- Cowles, R.B., and R.L. Phelan. 1958. Olfaction in rattlesnakes. *Copeia* 1958:77-83.
- De Groot, J.H., I.V. der Sluijs, P.C. Snelderwaard and V.L. van Leeuwen. 2004. A three-dimensional kinematic analysis of tongue flicking in *Python molurus*. *The Journal of Experimental Biology* 207:827-839.
- Downes, S.J. 1999. Prey odour influences retreat-site selection by naive snakes. *Journal of Herpetology* 33: 156-159.
- Drummond, H., and Garcia-Macias C.1995. Congenital responsiveness of garter snakes to a dangerous prey abolished by learning. *Animal Behaviour*, 49(4), 891-900.
- Drummond, Hugh. 1985. The role of vision in the predatory behaviour of natricine snakes. *Animal Behaviour* 1:206-215.
- Du, W., J.K. Webb and R. Shine. 2009. Heat, sight and scent: multiple cues influence foraging site selection by an ambush-foraging snake *Hoplocephalus bungaroides* (Elapidae). *Curr Zool*, 55: 266-271.
- Duvall, D., Chiszar, D., Hayes, W. K., Leonhardt, J. K., and Goode, M. J. 1990. Chemical and behavioral ecology of foraging in prairie rattlesnakes (*Crotalus viridis viridis*). *Journal of Chemical Ecology*, 16(1), 87-101.
- Endler, J.A. 1993. Some general comments on the evolution and design of animal communication systems. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B* 340:215-225.
- Eskew, E.A., Willson, J.D., and Winne, C.T. 2009. Ambush site selection and ontogenetic shifts in foraging strategy in a semi-aquatic pit viper, the Eastern cottonmouth. *Journal of Zoology*, 277(2), 179-186.

- Font, E., P. Carazo, G. Pérez i de Lanuza y D. Barbosa. 2010. Comportamiento y comunicación animal: ¿Qué nos enseñan los lagartos?. *Acta Zoológica Lilloana* 54: 11-34.
- Fuchs, J.L. and G.M. Burghardt. 1971. Effects of early feeding experience on the responses of garter snakes to food chemicals. *Learning and Motivation*, 2, 271-279.
- Furry, K., T. Swain, and D. Chiszar. 1991. Strike induced chemosensory searching and trail following by prairie rattlesnakes (*Crotalus viridis*) preying upon deer mice (*Peromyscus maniculatus*): Chemical discrimination among individual mice. *Herpetologica* 47:69-78.
- Gese, E.M. 2001. Territorial defense by coyotes (*Canis latrans*) in Yellowstone National Park, Wyoming: who, how, where, when, and why. *Can. J. Zool.* 79: 980-987.
- Golan, L., C. Radcliffe, T. Miller, B. O'Connell, and D. Chiszar. 1982. Trailing behavior in prairie rattlesnakes (*Crotalus viridis*). *Journal of Herpetology* 16: 287–293.
- Greenbaum, E. 2004. The influence of prey-scent stimuli on predatory behavior of the North American copperhead *Agkistrodon contortrix* (Serpentes: Viperidae). *Behavioral Ecology* 2:345-350.
- Greene, M.J., Stark, S.L., and Mason, R.T. 2001. Pheromone trailing behavior of the brown tree snake, *Boiga irregularis*. *Journal of chemical ecology* 27(11), 2193-2201.
- Halpern M. 1987. The organization and function of the vomeronasal system. *Annu Rev Neurosci* 10:325–362.
- Halpern, M. 1992. Nasal chemical senses in reptiles: structure and function. In: Gans, C., Crews, D. (Eds.), *Hormones, Brain and Behavior. Biology of the Reptilia. Physiology E*, vol. 18. University of Chicago Press, Chicago, pp. 423-523.
- Halpern, M. and N. Frumin. 1979. Roles of the vomeronasal and olfactory systems in prey attack and feeding in adult garter snakes. *Physiol. and Behav.* 22:1183-1189.
- Head, M.L., J.S. Keogh and P. Doughty. 2002. Experimental evidence of an age-specific shift in chemical detection of predators in a lizard. *Journal of Chemical Ecology* 3:541-554.

- Jackrel, S.L., and Reinert, H.K. 2011. Behavioral responses of a dietary specialist, the queen snake (*Regina septemvittata*), to potential chemoattractants released by its prey. *Journal of Herpetology*, 45(3), 272-276.
- Jiang, X.C., J. Inouchi, D Wang and M. Halpern. 1990. Purification and characterization of a chemoattractant from electric shock-induced earthworm secretion, its receptor binding, and signal transduction through the vomeronasal system of garter snakes. *The Journal of Biological Chemistry*, 265: 8736-8744.
- Kardong, K.V. and Smith, T.L. 2002: Proximate factors involved in rattlesnake predatory behavior: a review. In: *Biology of the Vipers* (Schuett, G. W., Hoggren, M., Douglas, M. E. & Greene, H. W., eds). Eagle Mountain Publishing, Eagle Mountain, UT, pp. 253-266.
- Kardong, K.V. and Bels, V.L. 1998. Rattlesnake strike behavior: kinematics. *The Journal of experimental biology* 201(6), 837-850.
- Koene, J.M. and A.T. Maat. 2002. The distinction between pheromones and allohormones. *J. Comp. Physiol. A* 188: 163-164.
- Kubie, J.L. and M. Halpern. 1979. The chemical senses involved in garter snake prey trailing. *J. Comp. Physiol. Psych.* 93:648-667.
- LaBonte J.P. 2008. Ontogeny of prey preference in the southern pacific rattlesnake *Crotalus oreganus helleri*. In: Hayes WK, Beaman KR, Cardwell MD, Bush SP eds. *The Biology of Rattlesnakes*. Loma Linda, U.S.A.: Loma Linda University Press, 169-174.
- Lanuzza, E., and M. Halpern. 1998. Efferents and centrifugal afferents of the main and accessory olfactory bulbs in the snake *Thamnophis sirtalis*. *Brain Behav. Evol.* 51:1-22.
- Lohman, A. H.M., and W.J.A. Smeets. 1993. Overview of the main and accessory olfactory bulb projections in reptiles. *Brain Behav. Evol.* 41:147-155.
- Loop, M.S. 1970. The effects of feeding experience on the response to prey-object extracts in rat snakes. *Psychonomic Science* 21:189-190.

- Luo, Y., S. Lu, P. Chen, D. Wang, and M. Halpern. 1994. Identification of Chemoattractant Receptors and G-proteins in the Vomeronasal System of Garter Snake. *The journal of biological chemistry*, 269: 16867-16877.
- Lyman-Henley, Lani P., and Gordon M. Burghardt. 1995. Diet, litter, and sex effects on chemical prey preference, growth, and site selection in two sympatric species of *Thamnophis*. *Herpetological Monographs* (1995): 140-160.
- Martínez-Marcos, A., Ubeda-Bañón, I., Halpern, M., 2001. Neural substrates for tongue-flicking behavior in snakes. *J. Comp. Neurol.* 432, 75–87.
- Mason, R.T. 1992. Reptilian pheromones. In: *Biology of the Reptilia* 18 (Gans, C. & Crews, D., eds). Univ. of Chicago Press, Chicago, IL, pp. 114-228.
- Mason, R. T. 1993. Chemical Ecology of the Red-Sided Garter Snake, *Thamnophis sirtalis parietalis*. *Brain, Behavior and Evolution*, 41(3-5), 261-268.
- Mason, R.T., T.H. Jones, H.M. Fales, L.K. Pannell and D. Crews. 1990. Characterization, synthesis, and behavioral responses to sex attractiveness pheromones of red-sided garter snakes (*Thamnophis sirtalis parietalis*). *Journal of Chemical Ecology* 16:2353-2369.
- McGregor, P.K. 2005. *Animal communication networks*. Cambridge University Press.
- Searcy, W.A. and S. Nowicki. 2005. *The evolution of animal communication*. Princeton University Press.
- Montemayor, J., M. Baddi, A. Flores y C. Aguilera. 2000. La comunicación química en los organismos. *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ* 1: 65-69.
- Mushinsky HR, Lotz KH, 1980. Chemoreceptive responses of two sympatric water snakes to extracts of commonly ingested prey species: Ontogenetic and ecological considerations. *J. Chem. Ecol.* 6: 523–535.
- Mushinsky, H.R. 1987. Foraging ecology. Pp. 302-334. In *Snakes: ecology and evolutionary biology* (R.A. Seigel, J.T. Collins, and S.S. Novak, eds.), Macmillian Publ. Co., New York, xiv+529 pp

- Norris, D.M. (ed), 1981. Perception of behavioral chemicals. Amsterdam: Elsevier/North-Holland.
- O'Connell, B., Chiszar, D. and Smith, H.M. 1981. Effect of poststrike disturbance on strike-induced chemosensory searching in the prairie rattlesnake (*Crotalus v. viridis*). *Behavioral and Neural Biology*, 1981,32, 343-349.
- Parker, M.R., and K.V. Kardong. 2005. Rattlesnakes can use airborne cues during post-strike relocation. In R. T. Mason, M. P. LeMaster, and D. Muller Schwarze (Eds.), *Chemical signals in vertebrates* (Vol. 10, pp. 397-402). Berlin: Springer Press.
- Parker, M.R., and K.V. Kardong. 2005. Rattlesnakes can use airborne cues during post-strike prey relocation. Pp. 397–402. In R. T. Mason, M. P. LeMaster, and D. Müller-Schwarze (Eds.), *Chemical Signals in Vertebrates 10*. Kluwer Academic Plenum Press, New York, New York, U.S.A.
- Parker, M.R., K.V. Kardong and B.A. Young. 2008. The forked tongue and edge detection in snakes (*Crotalus oreganus*): an experimental test. *Journal of Comparative Psychology* 1: 35-40.
- Pernetta, A.P., Reading, C.J., and Allen, J.A. 2009. Chemoreception and kin discrimination by neonate smooth snakes, *Coronella austriaca*. *Animal Behaviour* 77(2), 363-368.
- Polis, G.A. 1991. Complex Trophic Interactions in Deserts: An Empirical Critique of Food-Web Theory. *The American Naturalist* 138:123-155.
- Polis, G.A. and D.R. Strong.1996. Food web complexity and community dynamics. *American Naturalist* 147: 813.
- Radcliffe, C.W., Chiszar, D., and O'connell, B. 1980. Effects of prey size on poststrike behavior in rattlesnakes (*Crotalus durissus*, *C. enyo*, and *C. viridis*). *Bulletin of the Psychonomic Society*, 16(6), 449-450.
- Robinson, B.G., and K.V. Kardong. 1991. Relocation of struck prey by venomoid (venomless) rattlesnakes *Crotalus viridis oreganus*. *Bull. Maryland Herpetol. Soc.* 27:23–30.

- Rockhil Alving, W., and K.V. Kardong. 1996. The role of the vomeronasal organ in rattlesnake (*Crotalus viridis oreganus*) predatory behavior. *Brain Behav. Evol.* 48:165-172.
- Roth, E.D., May, P.G., and Farrell, T.M. 1999. Pigmy rattlesnakes use frog-derived chemical cues to select foraging sites. *Copeia* 1999:772–774.
- Saviola, A.J., D. Chiszar, M.T. Bealor and H.M. Smith. 2010. Response of Western Diamond back Rattlesnakes (*Crotalus atrox*) to Chemical Cues of Mice (*Mus musculus*) of Different Genders and Reproductive Status. *The Psychological Record* 60: 217-226.
- Saviola, A.J., V.J. Mckenzie y D. Chiszar. 2012. Chemosensory responses to chemical and visual stimuli in five species of colubrid snakes. *Acta Herpetologica* 7(1): 91-103.
- Saviola, A.J., W.E. Lamoreaux, R. Opferman and D. Chiszar. 2011. Chemosensory response of the threatened eastern indigo snake (*Drymarchon couperi*) to chemical and visual stimuli of *Mus musculus*. *Herpetological Conservation and Biology* 6(3):449-454.
- Schwenk, K. 1993. The evolution of chemoreception in squamate reptiles: a phylogenetic approach. *Brain Behav Evol* 41:124-137.
- Schwenk, K. 1995. Of tongues and noses: chemoreception in lizards and snakes. *Trends Ecol. Evol.* 11:7-1.
- Scott, M.L., Whiting, M.J., Webb, J.K., and Shine, R. 2013. Chemosensory discrimination of social cues mediates space use in snakes, *Cryptophis nigrescens* (Elapidae). *Animal Behaviour*, 85(6), 1493-1500.
- Searcy, William A., and Stephen Nowicki. 2005. The evolution of animal communication: reliability and deception in signaling systems. Princeton University Press.
- Sebeok, T.A. 1969. Semiotics and ethology. *Approaches to Animal Communication* 1:200.
- Shivik, J.A. 1998. Brown tree snake response to visual and olfactory cues. *J. Wild. Manag.* 62: 105–111.

- Smargiassi, M., Daghfous, G., Leroy, B., Legreneur, P., Toubeau, G., Bels, V., and Wattiez, R. 2012. Chemical basis of prey recognition in thamnophiine snakes: the unexpected new roles of parvalbumins. *PloS one* 7(6), e39560
- Smith, K.P., Parker, M.R., and Bien, W.F. 2015. Behavioral variation in prey odor responses in northern pine snake neonates and adults. *Chemoecology*, 1-10.
- Smith, T.L., K.V. Kardong, and P.A. Lavínmurcio. 2000. Persistence of trailing behavior: cues involved in poststrike behavior by the rattlesnake (*Crotalus viridis oreganus*). *Behaviour* 137:691-703.
- Stark, C.P., Chiszar, D., Stiles, K.E., and Smith, H.M. 2002. A laboratory situation for studying the effects of chemical and visual cues on prey trailing in brown treesnakes (*Boiga irregularis*). *Journal of herpetology* 57-62.
- Stevenson, R.D., C.R. Peterson and J.C. Isuji. 1985. The thermal dependence of locomotion, tongue-flicking, digestion, and oxygen consumption in the wandering garter snake. *Physiol Zool* 58:46-57.
- Swaigood, R.R., D.G. Lindburg, and H. Zhang. 2002. Discrimination of oestrous status in giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*) via chemical cues in urine. *J. Zool.* 257:381-386.
- Terrick, T.D., R.L. Mumme y G.M. Burghardt. 1995. Aposematic coloration enhances chemosensory recognition of noxious prey in the Garter Snake *Thamnophis radix*. *Anim. Behav.* 49: 857–866.
- Theodoratus, D.H., and D. Chiszar. 2000. Habitat selection and prey odor in the foraging behavior of Western rattlesnakes (*Crotalus viridis*). *Behaviour* 137:119-135.
- Vitt, L.J. and L.D. Vangilder. 1983. Ecology of a snake community in northeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia* 4: 273-296.
- Voris, H.K. 1972. The role of sea snakes (Hydrophiidae) in the trophic structure of coastal ocean communities. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 14(2), 429-442.

- Wang, D., P. Chen, X.C. Jiang and M. Halpern. 1988. Isolation from earthworms of a proteinaceous chemoattractant to garter snakes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 267: 459-466.
- Waters, R.M. 1993. Odorized air current trailing by garter snakes, *Thamnophis sirtalis*. *Brain, behavior and evolution*, 41(3-5), 219-223.
- Wattiez, R., C. Remy, P. Falmagne and G. Toubeau. 1994. Purification and preliminary characterization of a frog-derived proteinaceous chemoattractant eliciting prey attack by checkered garter snakes (*Thamnophis marcianus*). *Journal of Chemical Ecology* 20:1143-1160.
- Weatherhead, P J., and Madsen, Thomas. 2011. Linking behavioral ecology to conservation objectives. *Snakes: ecology and conservation*, 149-171.
- Weaver, R.E., and K.V. Kardong. 2009. Microhabitat and prey odor selection in *Hypsiglena chlorophaea*. *Copeia* 2009: 475-482.
- Weaver, R.E. 2010. Diet and reproductive ecology of the Desert Nightsnake in Central Washington State. *Journal of Herpetology* 44:148-152.
- Weaver, R.E. and K.V. Kardong. 2010. Behavioral responses to potential prey through chemoreception by the sharp-tailed snake (*Contia tenuis*). *Northwestern Naturalist* 91: 58-62.
- Weaver, R.E., Clark, W.H., and McEwen, D.C. 2012. Prey chemical discrimination by the desert Nightsnake (*Hypsiglena chlorophaea*): a comparison of invertebrate and vertebrate prey. *Journal of Herpetology* 46(4), 523-526.
- Webb, J.K., and Shine, R. 1992. To find an ant: trail-following in Australian blindsnakes (Typhlopidae). *Animal Behaviour*, 43(6), 941-948.
- Webb, J., and R. Shine. 1997. A field study of the spatial ecology and movements of a threatened snake species, *Hoplocephalus bungaroides*. *Biol. Conserv.* 82: 203-217.
- Weissburg, M.J., M.C. Ferner, D.P. Pisut and D.L. Smee. 2002. Ecological consequences of chemically mediated prey perception. *J. Chem. Ecol.* 28:1953–1970.

Weldon, P.J., B.J Demeter, T. Walsh and J.S.E. Kleister. 1994. Chemoreception in the feeding behavior of Reptiles: Considerations for maintenance and management. P. 61-70. In J.B. Murphy, K. Adler, and T.J, Collins (eds), Captive Management and Conservation of Amphibians and Reptiles. Society for the study of Amphibians and Reptiles, Ithaca (New York). Contributions of Herpetology, Volume II.

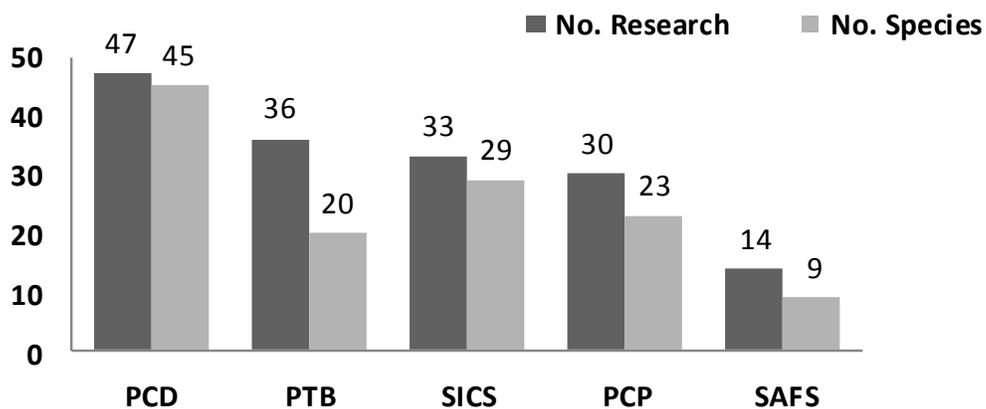
Wilde, W.S. 1938. The role of Jacobson's organ in the feeding reaction of the common garter snakes (*Thamnophis sirtalis sirtalis*). *J. exp. Zool.* 77: 445-465.

Witzany, G. 2014. Why Biocommunication of animals?. Springer Netherlands 1-6.

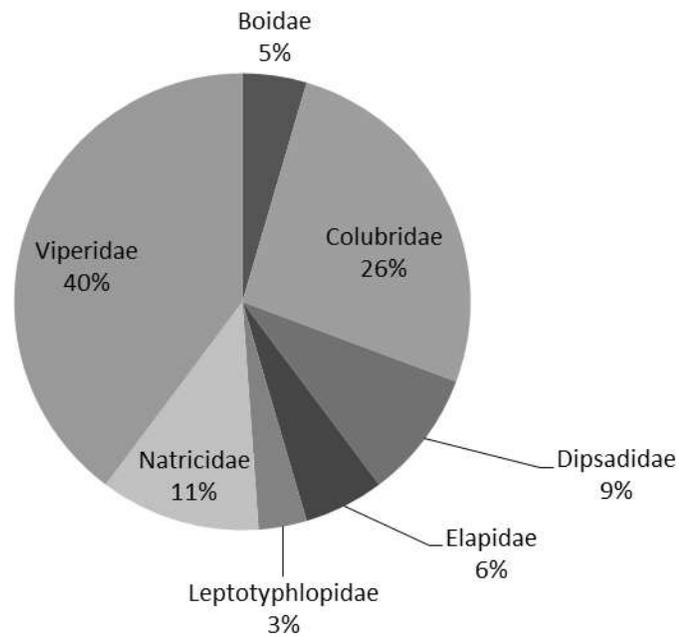
Wood, W.F., J.M. Parker, P.J. Weldon. 1995. Volatile components in scent gland secretions of garter snakes (*Thamnophis spp.*). *Journal of Chemical Ecology* 21:213-219.

Wyatt, T. 2003. Pheromones and Animal Behaviour: Communication by Smell and Taste. Cambridge: Cambridge University Press.

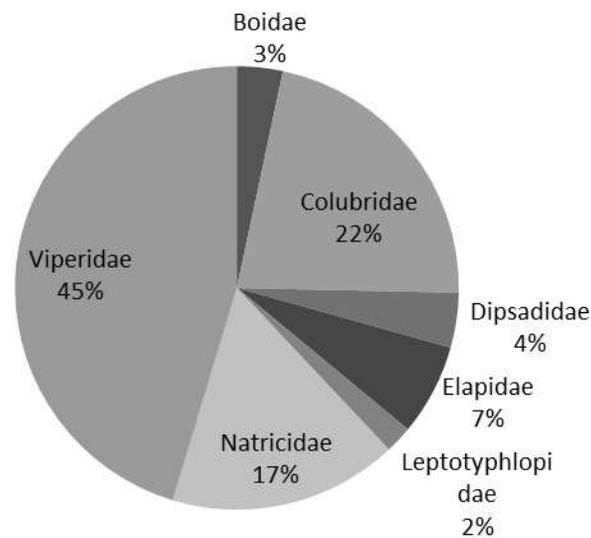
Young, B.A. 1990. Is there a direct link between the ophidian tongue and Jacobson's organ? *Amphibia-Reptilia* 11: 263-276.



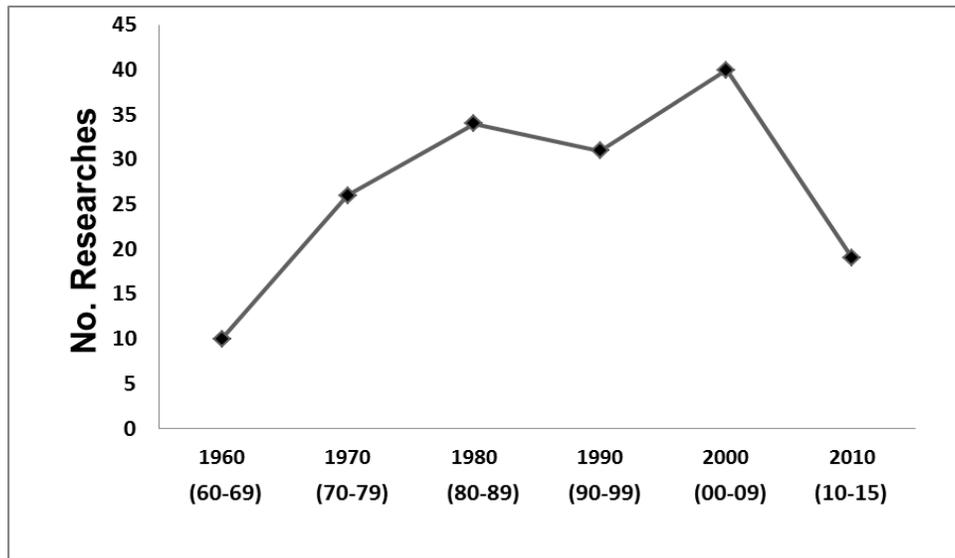
**Fig. 1.** Current relative number of researches and species into main chemosensory predatory behavior in snakes: PCD (prey chemical discrimination), PTB (prey trailing behavior), SICS (strike induce chemosensory search), PCP (prey chemical perception) and SAFS (selection of ambush foraging sites).



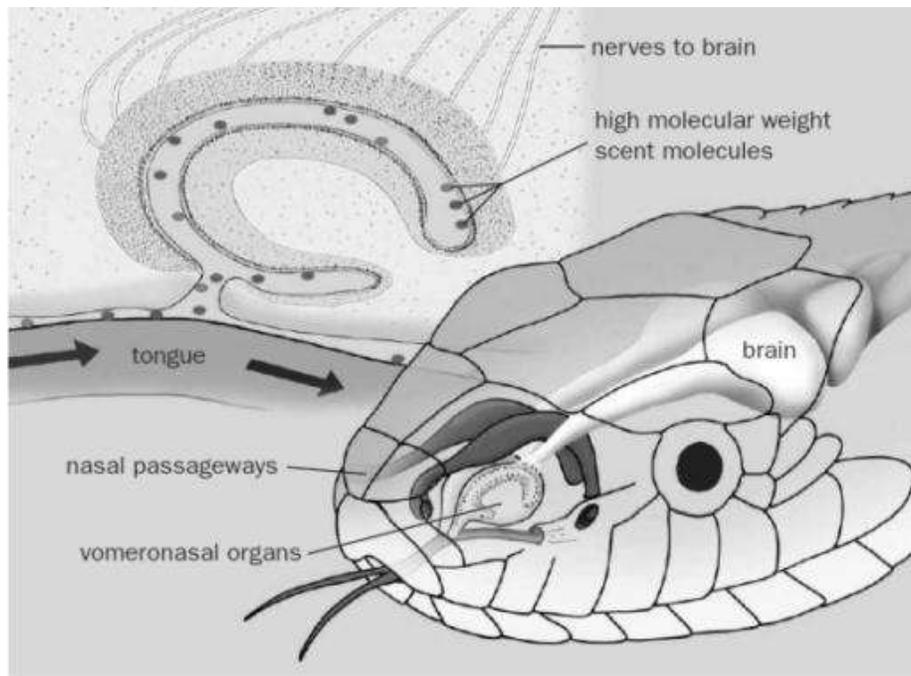
**Fig. 2.** Relative proportion in family snakes of 88 total species researched in at least some chemosensory predatory behavior.



**Fig. 3.** Relative proportion in family snakes of 160 total research articles of chemosensory predatory behavior.



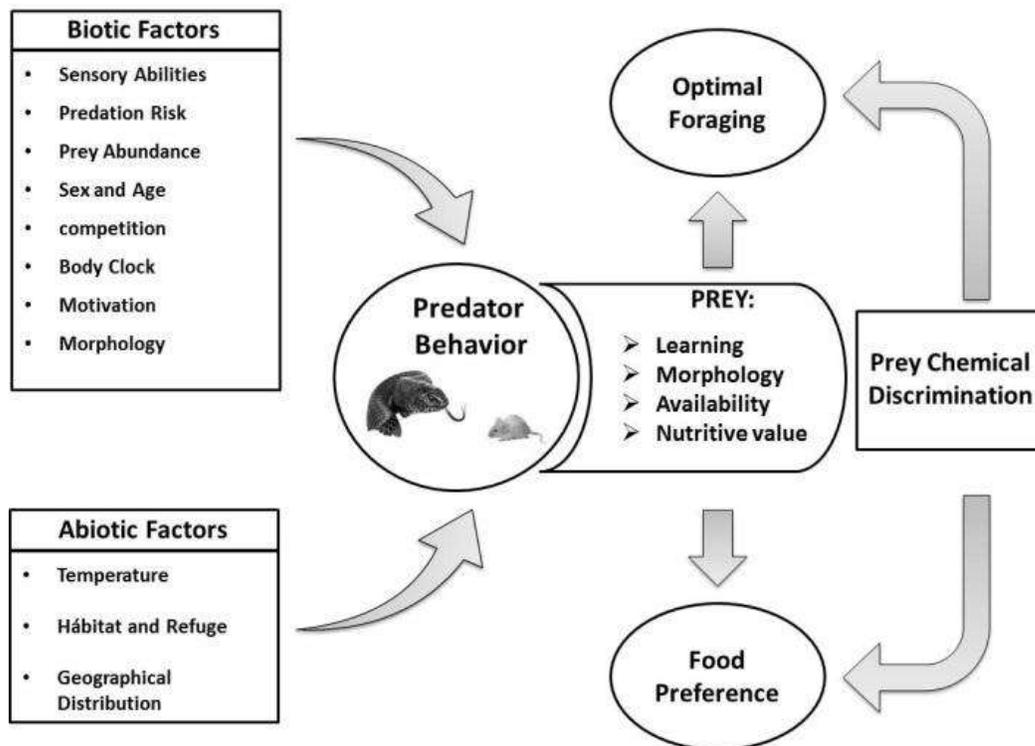
**Fig. 4.** Trends in researches of chemosensory predatory behavior in snakes in the last 55 years (1960-2015).



**Fig. 5.** Structure of the vomeronasal organ. It is a second olfactory chamber and one of the most developed chemical sensors snakes (Illustration by Dan Erickson) taken and modified Grzimek’s Animal Life Encyclopedia (2003).

**Table 1.** Main molecules of prey involved in the predatory behavior of some snakes.

Species	Prey	Kairomone	Source
Garter snake ( <i>Thamnophis marcianus</i> )	Frog ( <i>Rana temporaria</i> )	Glycoprotein FW 24	Wattiez et al. 1994
		Parvalbumins	Leroy et al. 2006
Garter snake ( <i>Thamnophis sirtalis</i> )	Earthworm ( <i>Lumbricus terrestris</i> )	Collagen	Kirscheubaum et al. 1986
		Protein ES20	Jiang et al. 1990
		Glycoprotein EW 20 y EW 3	Wang et al. 1988, 1993
Garter snake ( <i>Thamnophis sirtalis</i> )	Earthworm ( <i>Lumbricus terrestris</i> ) and fish( <i>Pimephales promelas</i> )	High and low molecules mass EW 159, 27 and EW 1.3, 1.8	Burghardt et al. 1988
Queen snake ( <i>Regina septemvittata</i> )	Molted crayfish	Ecdysone	Jackrel and Reinert 2011



**Fig. 6.** Flow diagram of action factors during the chemosensory predation by snakes.

## **CAPÍTULO II**

### **DISCRIMINACIÓN QUÍMICA DE PRESAS COMO INDICADOR DE PREFERENCIA EN DOS SERPIENTES SIMPÁTRICAS DEL GÉNERO *CONOPSIS***

*¿Qué es el tiempo? Es una serpiente que come su cola.*

Kurt Vonnegut (1922-2007)

**RESUMEN:** En este capítulo se describe y evalúa la actividad quimiosensorial y preferencia química de presas (conductas predatorias) en dos especies de serpientes cripticas (*Conopsis biserialis* y *C. nasus*) y simpátricas del estado de Michoacán. La finalidad es comparar sus habilidades para sensor estímulos químicos relacionados con olores potenciales de presas de vertebrados e invertebrados que ocurren en su hábitat. Adicionalmente se describen sus pautas de conducta alimentaria en cautiverio y se evalúa el efecto de la dieta sobre la actividad quimiosensorial en *C. biserialis*. Se encontró que las pequeñas serpientes fosoriales *Conopsis biserialis* y *C. nasus* son capaces de identificar químicamente su alimento y discriminar significativamente entre las señales químicas (olores) de sus presas preferidas y no preferidas. El índice de intensidad de la respuesta predatoria es significativamente mayor en la especie *C. biserialis* y los olores de presas que provocaron un mayor interés de depredación fueron los invertebrados. La preferencia de las serpientes hacia los estímulos olorosos de presas invertebradas como grillos, larvas de mariposas y escarabajos fue similar entre adultos y juveniles. Por otro lado su conducta alimentaria en cautiverio es bastante similar en ambas especies a diferencia de *C. nasus* que solo se alimenta de ortópteros como grillos. No se encontró un efecto de la dieta en cautiverio sobre la conducta predatoria quimiosensorial de *C. biserialis*. Los resultados obtenidos demuestran la importancia de las señales químicas de los invertebrados para las actividades de forrajeo de las serpientes *Conopsis*. Mis resultados sugieren que estas dos especies de serpientes cripticas tienen respuestas adaptativas en su conducta que les permite quizás evitar un marcado traslape de su nicho trófico y a pesar de su condición simpátrica pueden coexistir espacialmente.

**Palabras clave:** conducta, serpientes, presa, químicos, alimentación, depredador.

**ABSTRACT:** This chapter describes and evaluates the chemosensory activity and chemical prey preference (predatory behaviors) in two cryptic snakes species (*Conopsis biserialis* y *C. nasus*) and sympatric from Michoacan state. The purpose is to compare their abilities to sense chemical stimuli related to potential odors vertebrate and invertebrate prey that occur in their habitat. Additionally are described their patterns of feeding behavior in captivity and is evaluated the effect of the diet on the chemosensory activity of *C. biserialis*. It was found that small fossorial snakes *Conopsis biserialis* and *C. nasus* are able to chemically identify their food and discriminate significantly between chemical cues (odors) from their preferred and not preferred prey. The intensity index of predatory response is significantly higher in *C. biserialis* and the odors prey that caused greater predation interest were the invertebrates. The preference of snakes towards the invertebrate prey odorous stimuli like crickets, beetles and butterfly larvae was similar between adults and juveniles. On the other hand their feeding behavior in captivity it's quite similar in both species unlike *C. nasus* only feeds on orthopterans like crickets. There was no effect of the diet in captivity on chemosensory predatory behavior of *C biserialis*. The results obtained demonstrate the importance of invertebrate's chemical cues to foraging activities in *Conopsis* snakes. My results suggest that two cryptic snakes species have adaptative responses in behavior allowing them perhaps avoid a marked trophic niche overlap and despite his sympatric condition can coexist spatially.

**Key words:** behavior, snakes, prey, chemical, feeding, predator.

## 1. INTRODUCCIÓN

Desde los primeros estudios de Gordon Burghardt (uno de los principales investigadores de la quimiorrecepción en serpientes), se han desarrollado numerosos estudios relacionados con el tema de percepción química en reptiles (Schenk 1993), sobre todo en el orden Squamata (incluidos Amphisbenidos). Un buen número de estas investigaciones han sido enfocadas particularmente hacia individuos del clado Scleroglosa, en contraste con los relativamente pocos estudios realizados con individuos del clado Iguania (Bealor y Krekorian 2002). Sin embargo, las señales químicas son variables e importantes para ambos clados ya sea para la selección y localización de pareja, selección y localización de presas, conducta de forrajeo, reconocimiento propio e individual, reconocimiento de familiares, localización de refugios y madrigueras, seguimiento de rastros, identificación de depredadores, conductas de defensa y conductas de cortejo y apareamiento (Burghardt 1968, 1970, 1980; Dial y Schwenk 1996; Halpern 1980, 1983, 1987, 1992; Mason 1992; Mason y Parker 2010; Schwenk 1995, 2008). Por lo tanto, las señales químicas son estímulos fiables que forman parte del comportamiento social en los reptiles y que a su vez han evolucionado para su propia comunicación (Mason 1992; López 2002).

Las habilidades quimiosensoriales son probablemente más usadas en la actividades básicas de forrajeo y detección química de presas en el medio ambiente (Cooper 1994). Estas actividades de búsqueda e ingestión de alimento (presas) dependen específicamente de la estimulación química que pueda percibir el depredador (Noble y Clausen 1936; Wilde 1938; Burghardt y Hess 1968). Muchos depredadores han desarrollado importantes sistemas sensoriales para detectar y localizar a sus presas (Cooper 2008), por ejemplo las serpientes utilizan su lengua para capturar y llevar las sustancias químicas hacia su altamente desarrollado órgano vomeronasal, conocido por ser el sensor principal usado por muchas serpientes para detectar y localizar a sus presas (Halpern 1992).

La discriminación química de los alimentos es la habilidad para diferenciar entre estímulos químicos y responder fuertemente hacia los químicos de los alimentos preferidos (Cooper y Sherbrooke 2009). Así entonces si contamos el número de extrusiones linguales hacia estímulos químicos, podemos inferir si la señal química ha sido detectada (Semhan et al. 2010) y diferencias en la frecuencia de las extrusiones linguales hacia varios estímulos

nos ayuda a inferir si hay discriminación entre estos (Burghardt 1970, 1980; Cooper and Burghardt 1990 a,b). La discriminación química, inferida por las extrusiones linguales está altamente correlacionada con el modo de forrajeo a nivel especie o familia, es decir, algunos individuos son forrajeros activos y otros son forrajeros al acecho según el modo y la frecuencia con que utilicen las señales químicas (Cooper 1989 a,b; Cooper 1990; Cooper 1995).

En las serpientes, tanto las especies que son forrajeras activas como de emboscada exhiben discriminación química de presas (Burghardt 1967, 1970; Cooper et al. 1990, 2000; Cooper 1991; Theodoratus y Chiszar 2000). A nivel intraespecífico, las diferencias en la dieta entre las poblaciones están asociadas con diferencias heredables en la respuesta a los componentes químicos de alimentos (Arnold, 1981). Y de forma interespecífica, existe un fuerte correlación evolutiva entre la fuerza de respuesta quimiosensorial y la dieta en las serpientes (Cooper, 2008). Esta conducta llamada discriminación quimiosensorial se encuentra presente en un alto número de taxones del orden Squamata, pero existe una gran diversidad en la presencia y grado de desarrollo de estas conductas en diferentes familias y niveles taxonómicos mayores (Cooper, 1994). Aunque existen algunas excepciones en especies de las familias de agámidos e iguánidos (clado iguania) las cuales no exhiben la habilidad de usar señales químicas para discriminar entre potenciales tipos de presas (Cooper 2003).

La discriminación química de presas, estas juegan un importante rol en la ecología del forrajeo de muchas especies (Cooper 1995) a la vez que son de interés teórico para muchos investigadores (Cooper y Sherbrooke 2009). Actualmente se reconoce que los problemas diarios a los que los reptiles se enfrentan, como son la detección de presas, la orientación, o el reconocimiento de depredadores y de con-específicos frecuentemente requieren de la habilidad para percibir señales químicas del ambiente (Mason 1992).

Tres de las seis especies de serpientes del género *Conopsis* habitan y se distribuyen de manera simpátrica en el estado de Michoacán, principalmente en la provincia fisiográfica Eje Neovolcánico Transversal (Alvarado-Díaz et al. 2013), sin embargo solo dos de estas especies son más frecuentes de ser encontradas. Existen pocos estudios relacionados con la historia natural, biología y ecología de poblaciones de las serpientes fosoriales del género *Conopsis* (Colubridae), en especial son totalmente desconocidas sus

habilidades quimiosensoriales para la cacería de sus presas. Algunos autores sugieren que su dieta está conformada básicamente por insectos, como es el caso de *Conopsis biserialis* en la cual se han registrado larvas de lepidópteros, himenópteros, arácnidos y ortópteros que forman parte de sus contenidos estomacales y restos fecales (Castañeda-González 2011). Por otro lado, existe un marcado déficit de información sobre la dieta de la especie *Conopsis nasus*. Algunos autores mencionan que su dieta probablemente consiste principalmente de insectos pero también posiblemente incluya en su dieta vertebrados como lagartijas, ratones u otras serpientes (Vázquez y Quintero, 2005, 2007); incluso estos mismos autores señalan que ambas especies podrían tener dietas similares. Por lo tanto, parte del presente estudio intenta explorar la conducta predatoria de esta especie y aborda la siguiente pregunta de investigación: ¿Qué diferencias existen en las preferencias químicas de dos especies simpátricas del género *Conopsis* hacia presas de vertebrados y de invertebrados?

En este capítulo se pretende conocer parte de la conducta predatoria y evaluar la actividad quimiosensorial de dos especies de serpientes *Conopsis* que habitan en el estado de Michoacán, con base a diferentes tipos de presas (invertebrados y vertebrados) con la finalidad de comparar sus habilidades para censar estímulos químicos relacionados con olores de potenciales presas que ocurren en su ambiente, además de señalar si puede existir variación suficiente en la respuesta quimiosensorial como indicador de una posible preferencia hacia ciertos olores.

Se esperan encontrar diferencias significativas en las respuestas quimiosensoriales de las dos serpientes del género *Conopsis*, debido a que la conducta es una característica importante que comúnmente ayuda a diferenciar especies, es posible encontrar variación en la conducta de la discriminación química de presas (PCD; siglas en inglés) que sugiera una posible preferencia de presas única, es decir, que exista una discriminación de presas particular en cada especie de serpiente, como resultado de una posible repartición de recursos alimenticios en su ambiente natural. Investigar sobre su conducta nos ayuda a conocer si existe un solapamiento de sus preferencias y por lo tanto inferir que tan amplio podría ser un posible traslape trófico.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Respuesta quimiosensorial en especies de serpientes acuáticas

Sin duda alguna, uno de los grupos más estudiados en cuanto a procesos de preferencias químicas son las serpientes de la familia Natricidae, en especial las especies pertenecientes al género *Thamnophis*, las cuales tienen una amplia distribución en el continente americano desde Canadá hasta Costa Rica (Rossman et al. 1996). Sin embargo, son más diversas y abundantes en Norteamérica (Manjarrez 1998) lo cual ha facilitado que sean un buen modelo de estudio para diversas investigaciones al igual que otros géneros como *Nerodia* y *Regina* en los cuales también se han desarrollado importantes investigaciones de su conducta.

Burghardt (1968, 1969) analizó la respuesta quimiosensorial a señales químicas en diferentes especies de serpientes acuáticas recién nacidas (*Regina=Natrix* y *Thamnophis*), utilizó extractos de presas, preparados en laboratorio y los ofreció a las serpientes, encontrando algunos rechazos y similitudes en las preferencias químicas sobre extractos de las diferentes presas, sugiriendo que la selectividad perceptual química por estas serpientes es una respuesta evolutiva a condiciones presentes y pasadas. El autor sugiere que estas diferencias están relacionadas con la conducta de alimentación y con las preferencias ecológicas de sus padres, es decir, dependen de un componente genético innato, por lo que son susceptibles a la actuación de la selección natural y por lo tanto pueden ser utilizadas en conjunto con estudios morfológicos para estudios de la evolución en los ofidios.

Aparte de las preferencias innatas de las serpientes sobre los componentes químicos de sus presas, también ha sido registrado que la experiencia que logran adquirir diversas especies de serpientes durante sus procesos de alimentación juega un papel importante en las preferencias relativas de estímulos químicos (Fuchs and Burghardt 1971; Desfilis y Font, 2002). En muchos reptiles es importante el primer evento biológico cuando buscan e ingieren su primer alimento, porque esto determinará en gran parte las preferencias dietarias del animal en el futuro. Este evento o fenómeno ha recibido el nombre en inglés de *food imprinting* o impronta del alimento (Desfilis y Font, 2002). Lo cual es un factor muy importante a considerar en estudios de quimiorrecepción de serpientes en cautiverio que han sido alimentadas bajo cierto tipo de dietas y por las cuales se puedan alterar sus

preferencias químicas debido a ese acondicionamiento alimenticio que muchas veces no refleja precisamente su alimentación natural (Loop 1970). El efecto de la dieta sobre las preferencias químicas suele ser variable entre las diferentes especies de serpientes y no es un patrón universal, por ejemplo individuos de una especie generalista *Thamnophis radix* fueron criadas en cautiverio desde su nacimiento y fueron alimentadas con lombrices y peces, después de un tiempo (varios meses) los individuos mostraron preferencias por los estímulos químicos provenientes de esas mismas presas incluso a preparaciones con extractos olorosos poco concentrados (Fuchs y Burghardt 1971). Sin embargo, si observamos las respuestas quimiosensoriales de especies de serpientes que tienen una dieta más especialista como por ejemplo *Thamnophis melanogaster* que se alimenta de peces o *T. butleri* que se alimenta de lombrices, estas no exhibirán un incremento de lengüeteos para censar las sustancias químicas de presas que no estén dentro de su estrecho rango de preferencia, aun cuando se les haya forzado a ingerirlas en condiciones de cautiverio (Ford y Burghardt 1993).

Las capacidades sensoriales han evolucionado en base a los requerimientos alimenticios de las serpientes. Cooper en 2008 analizó esta situación con serpientes ligas (*Thamnophis elegans*) y descubrió que tienen una mayor capacidad de respuesta química a presas locales en poblaciones con variación geográfica y diferencias en la dieta por lo tanto poseen un componente hereditario en común.

Cuando especies exóticas son introducidas en ambientes nuevos y logran adecuarse a esas nuevas circunstancias, llega un punto en el que compiten por un mismo recurso con las especies autóctonas y nativas de dicho ambiente, lo que supondría que la especie exótica termine excluyendo a la especie nativa o bien pueden cohabitar haciendo un uso adecuado del recurso.

Si el planteamiento de que las especies exóticas excluyen a las nativas es correcto, puede surgir un desequilibrio o bien un reacomodo en las funciones ecológicas dentro del ecosistema. Por ejemplo, las interacciones presa-depredador se verían afectas por dicho suceso anteriormente comentado. Mullin et al. (2004) evaluaron la respuesta predatoria de dos poblaciones de *Thamnophis hammondi* (con disponibilidad de presas nativas y otras con disponibilidad de presas introducidas en sus medios naturales) hacia diferentes tipos de presas vertebradas nativas e introducidas, utilizando el uso de señales quimiosensoriales

que fueron presentadas a las serpientes. Las serpientes respondieron más intensamente a olores de presas introducidas que a otras presas nativas. El patrón de respuesta fue similar para serpientes de ambas poblaciones (con y sin experiencia con presas introducidas). Lo anterior sugiere la existencia de un comportamiento depredador generalista pero también oportunista con capacidades de plasticidad a los cambios en las abundancias y tipos de recursos alimenticios.

## 2.2. Respuesta quimiosensorial en especies de serpientes venenosas

Existen otros grupos de serpientes bien definidos en los que principalmente se han realizado los estudios basados en las respuestas quimiosensoriales, tal es el caso de las serpientes de cascabel (*Crotalus sp.*) el cual es un taxón frecuentemente utilizado en estas investigaciones, ya que proporcionan fácilmente información muy útil sobre su ecología de la conducta, ecología del forrajeo y algunas otros datos sobre las dinámica y ecología de poblaciones, dieta, reproducción, desplazamiento, fitogeografía etc.

Algunas investigaciones centran su interés en las respuestas quimiosensoriales en los estados ontogénicos (crías, subadultos y adultos) de las diferentes especies de serpientes de cascabel, tal es el caso de Saviola et al. (2012) quienes investigaron las respuestas quimiosensoriales de *Crotalus viridis* hacia olores de presas endotermas y presas ectotermas. Sus resultados sugieren que las crías de *C. viridis* muestran significativamente mayor interés hacia las señales químicas de presas ectotermas, mientras que los adultos presentaron mayor interés a señales de presas endotermas. Este cambio ontogénico en la quimiorrecepción esta correlacionado con cambios ontogénicos previamente descritos en la dieta de *C. viridis* (Hammerson, 1999).

Como se ha mostrado anteriormente, algunas serpientes de cascabel presentan mayor interés a las se señales químicas de presas endotermas como lo son pequeños mamíferos, especialmente roedores. Sin embargo, algunas especies son aún más específicas dentro de ese mismo tipo de alimento y demuestran discriminación intraespecífica de presas, mostrando una marcada preferencia hacia individuos específicos de la misma especie. Por ejemplo, la serpiente *Crotalus oreganus* involucra como parte de su dieta a una especie particular de ardilla terrestre (*Spermophilus beecheyi*), sin embargo estas serpientes prefieren capturar y alimentarse de las crías de dicha ardilla (Swaisgood et al. 1999),

mientras que las ardillas adultas son menospreciadas por esta serpiente de cascabel la cual no muestra interés en depredar a estos individuos (Hennessy and Owings, 1988) incluso los individuos adultos de esta presa han desarrollado cierta resistencia inmuno-fisiológica a su veneno (Coss et al. 1993) lo cual aprovechan para poder ahuyentarla mediante acciones de hostigamiento y ataques directos (Owings and Coss, 1977). La hipótesis para explicar este fenómeno es que las serpientes de cascabel pueden encontrar las madrigueras de crianza de pequeños mamíferos gracias a las señales químicas emanadas por las hembras lactantes, las cuales aprovechan para guiar su conducta depredadora de búsqueda y encuentro de su alimento. En este sentido, Saviola et al. (2010) estudiaron las respuestas quimiosensorial de *Crotalus atrox* hacia ratones de laboratorio (*Mus musculus*) de diferente sexo, diferente condición reproductiva y sus crías. Sus resultados no demuestran que la serpiente *C. atrox* prefiera censar químicamente de manera significativa a las hembras lactantes que a otros de los tratamientos utilizados, lo cual los llevan a inferir una serie de situaciones por las cuales tendrían que rechazar esta hipótesis al menos en esta especie y en su diseño particular de experimentación.

Numerosos experimentos indican que las serpientes de cascabel después de morder a sus presas desarrollan una imagen específicamente química en la búsqueda de dichas presas mordidas y utilizan esta información para realizar un seguimiento hasta donde se encuentren (Kardong y Smith 2002). Algunos autores sugieren que las señales químicas captadas por los vipéridos en este proceso de búsqueda son producidas por las presas, por ejemplo, el aroma, la orina o las feromonas de alarma Sin embargo, existen estudios que sugieren que las víboras son más sensibles a las estímulos químicos procedentes de tejidos de presas envenenadas que a las señales químicas producidas por la presa misma (Chiszar et al., 1992).

En este sentido, Greenbaum en 2004, probó si las señales o esencias químicas de tejidos envenenados eran más importantes que los aromas propios de las presas para que las serpientes implementen su búsqueda. Para examinar este fenómeno utilizó tres poblaciones de una especie de vipérido *Agkistrodon contortrix* con diferencias en distribución y también en su patrón dietario. Utilizó diferentes tratamientos con varias presas tanto envenenadas como no envenenadas. En conjunto, sus resultados sugieren que cuando las serpientes buscan presas, los estímulos de tejido envenenado son más importantes para ellas que los

olores que surgen de la propia presa. Por otro lado, existen otros grupos de serpientes venenosas que han recibido menos atención en cuanto a estudios de su respuesta quimiosensorial. Las serpientes de la familia Elapidae han desarrollado una amplia variación en cuanto a selección de presas. Un caso particular son las serpientes venenosas de Australia *Notechis scutatus* en las cuales Aubret et al. (2006) realizaron estudios sobre la preferencia de presas en dos poblaciones y también hicieron comparaciones con individuos recién nacidos, individuos juveniles con dieta controlada en cautiverio e individuos adultos con su dieta natural, es decir animales silvestres sin ninguna condición alimenticia de cautiverio. Sus respuestas quimiosensoriales a estímulos químicos y visuales provenientes de seis tipos de presa (ratón, eslizón, gaviota, pollo, pardelas, y ranas) fueron analizadas.

Las serpientes adultas capturadas en la naturaleza de ambas poblaciones mostraron una preferencia significativa por 3 tipos de presas (rana, ratón y pollo), con independencia de su dieta natural. Los recién nacidos respondieron a todas las señales de presa, sin embargo, los recién nacidos de una población mostraron significativamente mayor interés por estímulos de polluelos de la gaviota (la principal presa de estas serpientes en esa población). Los juveniles criados en el laboratorio desarrollaron una plasticidad de comportamiento al aumentar significativamente su respuesta a los ratones después de ser alimentados con crías de ratón durante 7 meses. Los autores concluyeron que la base genética de estas diferencias están relacionadas con las señales que pueden proporcionar los alimentos y estas señales (químicas o visuales) son importantes para las serpientes tigre *Notechis scutatus*, incluso para desarrollar plasticidad en su comportamiento.

### **2.3. Respuesta quimiosensorial en especies de serpientes de hábitos nocturnos**

Algunas especies de ofidios tienen hábitos alimenticios específicos, al menos seis grupos de serpientes son conocidas por alimentarse de gasterópodos terrestres (*Dipsadinae*, 1951; Sazima, 1989; *Duberria*, Branch, 1975; *Pareatinae*, Götz, 2002; *Storeria*, Brown, 1979; Rossman and Myer, 1990; *Thamnophis*, Fox, 1952; Britt et al., 2006; and *Tomodon*; Bizerra et al., 2005). Sin embargo algunos de estos grupos poseen especies que eventualmente consumen babosas en diferentes grados de ingesta (Cook 1960; Weaver y Kardong 2010).

La tribu Dipsadini es un grupo monofilético que está conformado por serpientes nocturnas como *Dipsas*, *Sibon*, *Sibynomorphus*, *Tropidodipsas* y un género monotípico llamado *Plesiodipsas* (Wallach, 1995; Harvey et al., 2008), estos géneros son altamente especialistas en caracoles terrestres más nunca antes habían sido evaluadas estas preferencias hasta que (Sheehy III, 2012) evaluó mediante un estudio de quimiorrecepción el supuesto de que las serpientes del género *Dipsas*, *Sibon* y *Tropidodipsas* (Grupo Dipsadini) prefieren presas gasterópodos (caracoles) que otras potenciales presas como ranas, lombrices y grillos. Efectivamente, obtuvieron como resultados una elevada respuesta quimiosensorial de los tres géneros de serpientes hacia presas gasterópodos, sin embargo una especie *Tropidodipsas philippii* también demostró un fuerte interés en las esencias de la lombriz, lo que podría sugerir es que esta especie come lombrices como forma adicional a su dieta especial de gasterópodos.

Algunos autores reportan serpientes con un tipo de alimentación a base de presas invertebradas, muchos otros estudios reportan serpientes con una dieta a base de presas vertebradas y algunos otros más reportan ambos tipos de presas en ciertas especies de serpientes. Enfocado en este problema Weaver et al., 2012 investigaron la respuesta de adultos y juveniles de una serpiente del desierto nocturna *Hypsiglena chlorophaea* a extractos de olores de diferentes y potenciales presas vertebradas e invertebradas previamente reportadas. Sus resultados mostraron que tanto adultos como juveniles tuvieron una respuesta mayor a una presa vertebrada (*Thamnophis elegans*) anteriormente reportada como potencial artículo alimenticio por (Weaver 2004, 2010).

Por lo tanto estos autores sugieren que al menos en las poblaciones norteadas de su distribución, la serpiente *H. chlorophaea* se alimenta de presas vertebradas indicado un tendencia especialmente ofidiofaga, aunque algunos autores también la consideran una especie fuertemente saurofaga (Rodríguez-Robles et al. 1999), por lo que la distribución biogeográfica y la disposición y abundancia de presas en su gradiente de distribución son factores importantes que se deben considerar.

La mayoría de los estudios de las respuestas conductuales a través del análisis del proceso de quimiorrecepción ha sido muy ampliamente estudiado en serpientes de mayor tamaño y casi o poco estudiado en serpientes pequeñas y cripticas, por lo tanto debido a su carácter natural de camuflaje se sabe poco sobre su ecología conductual en especial sus

habilidades para iniciar la búsqueda y captura de sus presas. Weavear y Kardong 2010 centraron su interés en el estudio de las respuestas quimiosensoriales en *Contia tenuis* una especie de serpiente criptica de tamaño pequeño, utilizaron esencias de varias dos tipos de presas invertebradas (babosas y lombrices) para registrar la frecuencia de exclusiones linguales y el periodo de latencia de esta especie hacia esos tratamientos. Sus resultados demostraron que esta especie tiene una alta preferencia hacia las babosas, sus resultados coinciden con las observaciones hechas por (Darling 1947; Cook 1960) quienes mencionan que su alimento principal son las babosas. Los autores sugieren que esta especie de serpiente puede ser encontrada en lugares con disturbios antropogénicos donde la abundancia de babosas es mayor.

#### **2.4. Respuesta quimiosensorial en otras especies de serpientes**

Clark y Ramírez 2011 analizaron la capacidad de la boa *Lichanura trivirgata* para discriminar entre varios olores químicos pertenecientes a diferentes presas, principalmente centraron su interés en la respuesta a olores de ratones hembras adultos con o sin crías dependientes, ofrecieron los estímulos químicos de forma directa con hisopos de algodón y de forma indirecta mediante rastros dispuestos en un escenario controlado. Los resultados no revelaron diferencias entre los diferentes olores mediante la técnica directa pero en los ensayos basados en el escenario controlado las serpientes mostraron una atracción a las señales químicas de los ratones hembra con camadas de crías.

Variados estudios sugieren que animales especialistas en su dieta responden de manera más cerrada y fuerte a las señales químicas emitidas por sus principales presas que a señales químicas de otras sustanciales taxa-presas. ejemplo de ello es la investigación de Cooper y Secor en 2007 quienes estudiaron las respuesta de crías de una serpiente especialista en sapos en su dieta (*Heterodon platirhinos*) a señales químicas de un menú de potenciales presas anfibias, efectivamente las serpientes aunque en estadio de crías, desarrollaron mayor tasa de excursiones linguales hacia una especie de sapo (*Bufo terrestris*) y seguida aunque con menos frecuencia de lengüeteos hacia las señales químicas de una rana verde (*Rana clamitans*). Sus resultados de la quimiorrecepción son concordantes según estudios sobre la dieta de estas serpientes.

Muchos otros colúbridos pueden seleccionar el olor de sus potenciales presas, incluso si son estas altamente venenosas. Weldon and Schell 1984 examinaron si la serpiente rey *Lampropeltis getulus* percibe estímulos químicos de otras serpientes, así como su preferencia a olores provenientes de serpientes venenosas (*Agkistrodon contortrix*) y olores de serpientes no venenosas (*Thamnophis sirtalis*, y una subespecie: *Lampropeltis getulus holbrooki*). Sus resultados sugieren que su modelo biológico de estudio puede percibir los químicos de la piel de otras serpientes, y también desarrollar un alto número de lengüeteos hacia las especies venenosas (*Agkistrodon contortrix*) más que a estímulos de otras serpientes, sin embargo los autores no evaluaron la significancia de esta discriminación.

## 2.5. Respuesta quimiosensorial en serpientes simpátricas

Dos de tres especies de serpientes recién nacidas del genero *Natrix* traslapan sus preferencias químicas hacia estímulos de extracto de cangrejos, mientras que una tercera especie prefiere químicamente los estímulos provenientes de presas como anfibios y peces (Burghardt, 1968). Estas preferencias corresponden a las características del alimento preferido de cada especie (Smith, 1961). Por la falta de datos en la literatura para entender las preferencias de las serpientes *Natrix* por cangrejos, Burghardt (1968) interpreto estos resultados como una discriminación condicionada envolviendo no solo señales químicas, si no quizás visuales y el propio comportamiento a esa edad, además de posibles diferencias nutricionales en los tipos de presas.

## 2.6. El concepto “preferencia”

El término “preferencia” puede presentar fuertes dificultades debido a su amplio contexto según el campo del saber donde se utilice, así como su dificultad al plantearse como un parámetro a medir, por lo que para tal situación es necesario utilizar una definición que se ajuste a las necesidades del presente proyecto de investigación relacionado con ecología de la conducta. El termino preferencia bajo una definición general es una elección real o imaginaria entre ciertas alternativas y la posibilidad de ordenarlas, sin embargo esta definición presenta inconvenientes cuando se trata de medir la respuesta química bajo el diseño de discriminación química de presas (PCD) en depredadores como las serpientes,

por lo tanto, para tal efecto he decidido utilizar la siguiente definición que de cierto modo se ajusta mejor a los objetivos planteados en esta tesis.

“Preferencia” es una inclinación favorable que se siente hacia un determinado individuo o cosa a través de la motivación. Por lo tanto, en este estudio la inclinación favorable es el despliegue de las frecuencias conductuales exhibidas por las serpientes registradas mediante el análisis de PCD con el diseño experimental de isopos de algodón, ya que estos pueden inducir la activación de un estado interno (motivación) que logra mantener y dirigir dichas conductas. Así por lo tanto el término “preferencia” ha sido aplicado a situaciones ecológicas y experimentales en las cuales los estímulos químicos u otras señales de información provenientes de una presa son respondidos relativamente más que otros (Burghardt 1967; Aubret et al. 2006).

## **2.7. Sujetos de estudio: *Conopsis biserialis* y *Conopsis nasus* (Serpentes: Colubridae)**

La familia *Colubridae* es el grupo de serpientes estructuralmente más diverso que existe, se distribuye ampliamente a lo largo todo el mundo, excepto en la Antártida y e islas oceánicas. El número de géneros y especies es solo aproximado y aún es incierto debido a sus intrincadas relaciones taxonómicas (Vitt y Caldwell 2009). La subfamilia *Colubrinae* es reconocida por muchos herpetólogos, dentro de esta subfamilia se encuentra el género *Conopsis* con seis especies reconocidas: *C. acuta*, *C. amphisticha*, *C. biserialis*, *C. lineata*, *C. megalodon* y *C. nasus* (Goyenechea y Flores-Villela 2006).

Las serpientes colúbridas del género *Conopsis* son endémicas a México y se distribuyen en diversos tipos de vegetación, principalmente en bosques de pino y encino entre los 1700 y 3200 msnm desde Chihuahua hasta Oaxaca (Goyenechea 2009). Son organismos de talla pequeña, aproximadamente de 100 a 300 mm de longitud hocico cloaca y se logran identificar por varias características, incluidas el arreglo de sus escamas y la variación en su coloración, una característica que comparten en común y que no se identifica a simple vista, es un surco por lo menos en 1 de los 3 últimos dientes maxilares (Goyenechea y Flores-Villela, 2002). En años relativamente recientes se aclaró la historia taxonómica entre el género *Toluca* y *Conopsis*, desapareciendo el género *Toluca* para convertirse en sinonimia de *Conopsis* debido a la falta de un carácter "diacrítico" que pudiera distinguir fácilmente a ambos géneros (Goyenechea y Flores-Villela, 2002).

Las especies de *Conopsis* son principalmente de hábitos diurnos y excavadores, se les halla bajo piedras y troncos, así como entre zacates amacollados (Uribe-Peña et al. 1999), por lo tanto son consideradas por algunos autores como serpientes fosorialmente especialistas (Greene 1997, Castañeda-Gonzales et al. 2011). Presentan cuerpo subcilindrico, con la cabeza corta y el hocico puntiagudo, pupilas redondas, la mayoría de las especies son de reproducción Vivípara (Goyenechea y Flores-Villela 2006). Aún faltan estudios que describan y completen más la ecología e historia natural de las especies de *Conopsis*, ya que es muy limitado e incompleto el conocimiento que existe para describir con claridad a la mayor parte de las especies de este género. Son especies que pueden verse altamente afectas por la fragmentación del hábitat debido a las actividades antropogénicas (Ramírez-Bautista y Arizmendi 2004). Debido a la imprecisa y fragmentada información sobre la biología y ecología de estas especies, para hacer la descripción nos basamos principalmente en los estudios realizados por Goyenechea y Flores Villela (2006) y Castañeda-González (2011), Uribe-Peña et al. (1999) y en las publicaciones de Ramírez-Bautista y Arizmendi (2004) y Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayén (2010).

### **2.7.1. *Conopsis biserialis* (Taylor y Smith, 1942)**

#### **Descripción:**

Serpientes de tamaño pequeño con el cuerpo ligeramente robusto, llegan a alcanzar una longitud promedio de hocico-cloaca de 200 mm, la cola es corta, aproximadamente de 22 a 25% de la longitud del cuerpo. Cabeza ligeramente distintiva del cuello y la punta del hocico es puntiaguda. Ojos pequeños y pupila redonda, 17 hileras de escamas lisas alrededor del cuerpo. Fosetas apicales ausentes. Escama anal dividida. La coloración es café grisáceo, se caracteriza por el patrón de manchas en el cuerpo, tiene dos series de manchas en el dorso que corren longitudinalmente a lo largo del cuerpo, o un patrón de manchas estrechas transversales con los bordes aserrados. Vientre amarillento, teniendo algunas ocasiones una serie de manchas oscuras pareadas en cada escama ventral (Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayén 2010).

#### **Distribución:**

Es una especie endémica a México, y su rango de distribución originalmente descrito por Taylor y Smith (1942), abarca del área suroeste de la altiplanicie mexicana, del centro hacia al suroeste de México, principalmente en los estados de Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos y Puebla; desde los 1700 hasta 3080 msnm (Goyenechea y Flores Villela 2006).

### **Historia Natural:**

Esta es una especie rara que habita en la zona de Izotales (Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayén 2010), pero al parecer también muestra una marcada preferencia por los bosques de pino y de pino encino (Uribe-Peña et al. 1999), así mismo bosques fríos de montaña. Es diurna y de hábitos terrestres, generalmente se encuentran debajo de las rocas durante un largo periodo de tiempo. Su alimentación es a base de insectos, especialmente de larvas de lepidópteros (mariposas), arácnidos (arañas), himenópteros (hormigas) y ortópteros (niños) y de insectos adultos como lepidóptero, escorpionidos, acáridos y dípteros (Castañeda-González et al. 2011). En general se conoce muy poco sobre su biología de la reproducción (Ramírez-Bautista y Arizmendi 2004). Su modo de reproducción es vivíparo, con nacimiento de 2 a 8 crías de tamaño pequeño, probablemente con un ciclo de reproducción menor a un año y con el nacimiento de las crías en primavera (Fitch 1970; Ramírez-Bautista et al. 1995; Estrada-Virgen y Alvarado-Díaz 2003; Castañeda-González et al. 2011).

### **2.7.2. *Conopsis nasus* (Günther, 1858)**

#### **Descripción:**

Serpientes pequeñas llegan a alcanzar un promedio de longitud hocico- cloaca de 202 mm, la cola es corta de aproximadamente de 36 mm (Goyenechea y Flores Villela 2006). Cabeza ligeramente distintiva del cuello y la punta del hocico es puntiagudo. Ojos pequeños y pupila redonda. 17 hileras de escamas lisas alrededor del cuerpo. Fosetas apicales ausentes. Escama anal dividida (Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayén 2010). Color del dorso ligeramente color canela o beige con una línea hexagonal de puntos negros, vientre de color amarillento con pequeños puntos intercalados (Goyenechea y Flores Villela 2006).

**Distribución:**

Es una especie endémica que se distribuye en el Centro-Norte de México, colectándose en los estados de Chihuahua, Aguascalientes, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Tlaxcala, Veracruz and Zacatecas, desde los 1515 hasta los 2950 msnm (Goyenechea y Flores Villela 2006).

**Historia Natural:**

Son de hábitos terrestres y fosoriales, en bosques de encino, pino-encino, bosques de abeto y ambientes de matorral xerófilo. Difíciles de observar en época de secas, pero comunes en la época de lluvias, generalmente se encuentran debajo de las rocas y son más abundantes de julio a septiembre (Goyenechea y Flores Villela 2006). Se alimentan principalmente de invertebrados, aunque se menciona que también se alimenta de pequeñas lagartijas, ratones y serpientes (Vázquez y Quintero, 2005). Es una especie vivípara, se desconoce mucho sobre su historia natural incluida su reproducción (Fitch 1970). De acuerdo a algunos autores como Greer (1966) reporta que la reproducción de esta especie comienza en Octubre y Noviembre, así mismo fundamenta que las hembras llegan a contener un promedio de 3.6 embriones (1-6). Por otro lado Juárez-Escamilla y Ramírez-Bautista (2013) reportan tallas pequeñas y un alto esfuerzo reproductivo para esta especie.



*Conopsis biserialis*



*Conopsis nasus*



**Fig. 7.** Distribución en México de dos serpientes endémicas y simpátricas del género *Conopsis* (Goyenechea y Flores Villela 2006). Fotografías: Oscar Medina Aguilar.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo general

- Investigar la preferencia quimiosensorial a través de la discriminación química de presas (PCD) en tres especies de serpientes simpátricas del género *Conopsis*.

#### 3.2 Objetivos particulares

- Conocer y evaluar la (PCD) de dos tipos: vertebrados e invertebrados, en las serpientes adultas y juveniles de *Conopsis biserialis* y *Conopsis nasus*.
- Evaluar la intensidad de la respuesta predatoria y la conducta alimentaria en cada especie de *Conopsis*.
- Evaluar el efecto de la dieta reciente en cautiverio sobre la discriminación química de presas (PCD) en las dos especies.

#### 3.3 Hipótesis

Los componentes químicos del olor de las presas tienen influencia distinta sobre las preferencias de dos especies *Conopsis*.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Colecta y mantenimiento de los sujetos de estudio

Todos los individuos de cada especie de serpiente *Conopsis* se colectaron dentro del estado de Michoacán, particularmente en diferentes localidades pero todas pertenecientes al municipio de Morelia. Nosotros no consideramos que todos los individuos de las dos especies de serpientes *Conopsis* que habitan en cada localidad de Morelia, pertenezcan a poblaciones diferentes y fijas, sino como una sola mega-población con una capacidad limitada de desplazamiento dentro de cada uno de los municipios de Morelia. Por lo tanto, para considerar una población genéticamente diferente dentro de la Provincia Fisiográfica Eje Neo Volcánico Transversal en Michoacán, necesitaríamos colectar individuos de sitios cuyas características como tipos de vegetación y climas (precipitación y temperatura, altitud) sean fuertemente marcadas y aisladas geográficamente y por lo tanto presentaran una mayor o menor fluctuación de esas variables ambientales kilómetros hacia al Norte o kilómetros hacia el Sur del polígono que engloba Morelia y sus alrededores.

El día 20 de septiembre del 2014 en un horario de 13:30 a 16:30 pm se colectaron un total de 22 serpientes *Conopsis biserialis* en la localidad de Ichaqueo, municipio de Morelia, Michoacán, México (19.57037° N, 101.13615° O, 2461 msnm). La vegetación dominante en la zona es pino y encino (Carranza, 2005) pero las serpientes se encontraron fuera de este tipo de bosque y se concentraron con mayor frecuencia en zonas abiertas de matorral de vegetación secundaria y muy cerca de parcelas de cultivo. Todas las serpientes fueron colectadas debajo de piedras y cortezas de árbol.

De Febrero a Octubre del 2014 se colectaron 14 individuos de la especie *Conopsis nasus* en cuatro diferentes localidades: Cuto de la Esperanza (19°44'7.81"N y 101°19'29.21"O, 2160 msnm), Chiquimitio (19°47'15.13" N y 101°17'27.10" O, 2020 msnm) La Carbonera (19°49'47.04"N 101°16'59.44"O, 2310 msnm), e Ichaqueo (19.57037° N, 101.13615° O, 2461 msnm), todas consideradas municipios de Morelia (19.667454° N, 101.175767° O, 2061msnm), Michoacán, México. La vegetación donde se encontraron fue principalmente Matorral Subtropical (vegetación secundaria) de Selva Baja Caducifolia y Bosque de Encino, todas las serpientes estuvieron inactivas debajo de rocas.

Las serpientes fueron mantenidas en contenedores individuales de plástico transparente (20 x 30 x 10 cm) cerrados con tapas ventiladas y colocadas en un lugar tranquilo y sin tránsito dentro del Laboratorio de Herpetología del Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales (INIRENA). Cada contenedor contuvo una capa de pit moss como sustrato comercial esterilizado, además un tazón de agua y una roca para apoyo durante la muda. El agua estuvo disponible *ad libitum*, cada serpiente fue alimentada con grillos semanalmente, esta alimentación fue suspendida cuando comenzaba el periodo de experimentación, por lo menos dos semanas antes de cualquier tratamiento. Los contenedores de cada serpiente fueron mantenidos bajo fotoperiodo natural 12:12 horas luz-noche a una temperatura entre 27-28°C. Las serpientes fueron monitoreadas bajo estas condiciones durante tres semanas antes de iniciar los experimentos.

#### **4.2 Tipos de presa**

Existen estudios limitados que examinan de manera general la dieta de las serpientes *Conopsis*. La mayoría de los datos sobre su alimentación son anecdóticos y poco precisos. A pesar de esto, siendo la única fuente de información existente usamos estos datos para elegir las mejores tipos de presas para las tres especies de serpientes, así mismo de las posibles presas que por experiencia personal se han observado ocurrir dentro de su microhábitat. Los tipos de presas quedaron conformadas básicamente por dos grupos: presas invertebradas y presas vertebradas.

#### **4.3 Elaboración de los estímulos químicos**

La preparación de las esencias u olores químicos tuvo lugar en el laboratorio de Ecofisiología del Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales (INIRENA). Los olores de las presas vertebras e invertebradas se obtuvieron de acuerdo con la metodología básica desarrollada y estandariza por Burghardt (1966, 1968) que a continuación se describe:

**Paso número 1.** Se colocaron en un recipiente una pequeña cantidad de los individuos de cada presa de vertebrados (1) y de presas invertebrados (2) para ser enjuagados con agua del grifo y se secaron completamente con papel absorbente.

**Paso número 2.** Se colocó en un vaso de precipitado una cantidad de 10 cm<sup>3</sup> de agua destilada por cada 1.5 gramos de peso de cada individuo-presa y se procedió a calentar hasta alcanzar los 50 °C.

**Paso número 3.** Posteriormente el animal se colocó en el agua caliente y se agitó suavemente durante un minuto.

**Paso número 4.** El animal se retira del recipiente y el extracto resultante de sus sustancias superficiales se coloca en una centrifuga a 2500 rpm durante 10 minutos.

**Paso número 5.** El líquido sobrenadante se vierte en viales con tapa previamente esterilizados y se mantienen refrigerados hasta su uso.

Aunque se ha demostrado que los extractos de este tipo no pierden sus propiedades químicas efectivas durante el trascurso de tres días de haber sido preparados (Burghardt y Hess, 1968), todas las sustancias o tratamientos para cualquier experimento, se prepararon al mismo tiempo y en el día de, o un día antes del inicio de la prueba.

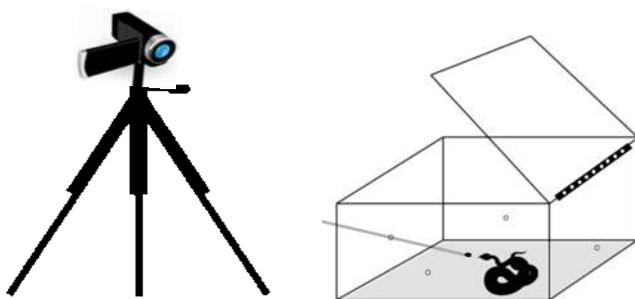
#### **4.4 Desarrollo del experimento (diseño experimental para PCD)**

La preferencia quimiosensorial de presas ha sido ampliamente estudiada en un buen número de especies de esquamatos, presentando a los individuos experimentales esencias o extractos preparados y comparando las frecuencias de lengüeteos, asumiendo que el incremento de la frecuencia de lengüeteos representa un marcado interés del reptil en una esencia u olor particular (Burghardt, 1967; Cooper y Burghardt, 1990). Para evaluar el supuesto de que los individuos del género *Conopsis* prefieren más a presas invertebradas que presas vertebradas, ofrecí a 22 *Conopsis biserialis* y a 14 *Conopsis nasus* las esencias u olores de 6 tipos de presa así como un control positivo y un control negativo.

Los olores de las presas invertebradas que yo utilice fueron de grillo doméstico (*Acheta domesticus*), oruga de lepidóptero conocida como gusano de la cera (*Galleria melonella*) y la larva de escarabajo conocida como “gallinita” (*Phyllophaga sp.*). Como olores de presas vertebradas fueron seleccionados la lagartija (*Sceloporus scalaris*), rana (*Hyla eximia*) y olor de crías de ratón “pinkis” (*Mus musculus*). Los grillos, crías de ratón y orugas de lepidóptero fueron comprados en tiendas de alimentos para mascotas. La lagartija *S. scalaris* y la rana *H. eximia* así como las larvas de escarabajo (“gallinitas”) fueron colectadas dentro del área de la Provincia Fisiográfica Eje Neo-Volcánico Transversal que

corresponde a Michoacán, y fueron usadas por su marcada relevancia ecológica dentro del hábitat que comparte con las serpientes *Conopsis*. Para el control positivo utilice una serpiente como depredador (*Coluber mentovarius*), el cual funcionara como un olor pero este no será reconocido como alimento para estas serpientes. Para el control negativo utilice agua destilada (dH<sub>2</sub>O), para evaluar la reacción hacia la presencia del agua sin un olor o esencia.

Los olores fueron ofrecidos en lugar aislado dentro del laboratorio y bajo una luz tenue a través de una arena o caja experimental construida de vidrio (25 X 25 X 20 cm), con un orificio central de un centímetro de diámetro en cada una de las cuatro paredes frontales de la caja (Fig. 1), estos orificios fueron sellados parcialmente con cinta hasta su correspondiente uso y la caja fue cubierta en su alrededor con papel blanco excepto la cubierta superior. Se utilizaron isopos esterilizados (marca PROTEC) de 15 centímetros de largo, los cuales primero fueron sumergidos en los extractos de presa previamente preparados y después eran introducidos completamente por algún orificio de la caja hacia donde se encontraba la serpiente, los isopos fueron acercados aproximadamente a un centímetro (1cm) en frente de la nariz de la serpiente por 60 segundos. Durante este tiempo se registraron dos variables: el periodo de latencia (tiempo antes de la primera excursión lingual) y el número de excursiones linguales en el mismo periodo de tiempo (60s) después de la primera excursión lingual (Cooper y Burghardt 1990; Weaver, 2010). Las conductas fueron filmadas con una cámara Panasonic modelo SDR-H101 colocada sobre un tripie y enfocada hacia adentro de la arena experimental.



**Fig. 8.** Diseño experimental para el desarrollo de las pruebas de reconocimiento químico de presas.

La alimentación fue suspendida al menos 15 días antes de cualquier experimento en todas las serpientes. Los individuos fueron elegidos aleatoriamente y colocados en el centro de la arena experimental 30 minutos antes de cualquier prueba para permitir la habituación de las serpientes al nuevo ambiente.

Todos los tratamientos (olores) fueron medidos una sola vez por individuo en orden aleatorio, dos tratamientos fueron utilizados por día y con una hora de intervalo entre tratamiento para permitir a las serpientes regresar a su estado de reposo y conducta original. La arena experimental fue limpiada con un detergente industrial (Extran) utilizado para limpiar material de cristalería de laboratorios y posteriormente enjuagada con agua destilada para eliminar los olores del experimento anterior. El descanso de los individuos y mantener la asepsia de la caja experimental, minimiza la posibilidad de que un experimento influya en los resultados de un subsecuente experimento (Coleman 2012).

#### **4.5 Intensidad de la respuesta quimiosensorial**

En muchas situaciones, varias especies de serpientes responden a los químicos presentes en los aplicadores de algodón (isopos) mediante una serie de extrusiones linguales, y en algunos casos, mordiendo el isopo, especialmente si este porta estímulos químicos de su presa preferida (Cooper y Burghardt, 1990). Por lo tanto, ha sido de importancia medir tanto la tasa de extrusiones linguales (Tongue-Flick Rate) y el periodo de latencia a morder (Latency of Bite), ya que forman parte fundamental de las variables más comúnmente medidas para comprender el comportamiento depredador de reptiles, sin embargo pocos estudios tienen la cualidad de integrar estas dos variables en un singular índice desarrollado por Burghardt (1967, 1970) el cual es capaz de calcular una general y fuerte respuesta hacia un estímulo en particular, el índice es traducido literalmente como “Puntaje de lengüeteo-ataque” o bien en inglés Tongue-Flick/Attack Score (TFAS). Este índice ha sido una herramienta estandarizada y altamente exitosa para estudiar la habilidad de los reptiles squamata para discriminar los químicos de las presas (olores) y estímulos como controles no biológicamente relevantes (Cooper y Burghardt, 1990).

El TFAS fue elaborado bajo la premisa de que un ataque o mordida es un fuerte indicador de una respuesta predatoria más que cualquier número de lengüeteos y que la latencia será menor conforme incrementa la fuerza del estímulo (Burghardt 1970).

En este estudio yo utilice el índice TFAS modificado por Cooper y Burghardt (1990) ya que es más adecuado por la necesidad de obtener la respuesta de cada individuo hacia una serie de estímulos químicos de ocho diferentes condiciones.

El índice funciona de manera sencilla con la siguiente notación:

$$\mathbf{TFAS(R)_i = TF_{maxi} + (TL - Latency_i)}$$

**TFAS(R)<sub>i</sub>** = Puntaje de lengüeteo-ataque de cada individuo a múltiples estímulos.

**TF<sub>maxi</sub>** = Número máximo de lengüeteos emitido por cada individuo (i) en cualquier prueba o ensayo.

**TL**= Es el tiempo que dura la prueba (segundos) en ausencia de ataque.

**Latency<sub>i</sub>**= Tiempo (segundos) que tardo el individuo antes de emitir un ataque o mordida.

- Si no existe un ataque o mordida por parte de un individuo, su TFAS(R) será sencillamente el número total de lengüeteos en un periodo de 60 segundos.
- Si el sujeto ataca o muerde, su TFAS(R) será la unidad base (TF<sub>maxi</sub>) más (TL-Latencia<sub>i</sub>).

#### **4.6 Conducta alimentaria**

En este estudio fueron utilizadas doce *Conopsis biserialis* y trece *Conopsis nasus* para los experimentos de la conducta de forrajeo (Fig. 2). Todos los individuos fueron alimentados con grillos (*Acheta domestica*) y gusano de la cera (*Galleria melonella*). Las pruebas de alimentación fueron desarrolladas tres veces por individuo en orden aleatorio, en lugar aislado dentro del laboratorio y bajo una luz tenue en un horario de 12:00 a 15:00 pm. Todas las serpientes fueron alimentadas dentro de su contenedor de plástico original, también fueron removidas las rocas y el tazón de agua para evitar que influyeran el experimento.

Se colocó un grillo dentro del contenedor de la serpiente y se le permitió moverse a voluntad por todo el espacio. Durante un periodo de diez minutos fueron video-grabadas con una cámara Panasonic SDR-H101 y se registraron las siguientes variables de su

comportamiento de forrajeo: tiempo viendo la presa antes de la mordida, tiempo de búsqueda quimiosensorial (antes de capturarla), número de ataques (mordidas) emitidos, distancia aproximada del ataque (mordida) hacia la presa, localización de la mordida sobre la presa (cabeza, tórax, cola) y tiempo de ingesta completa de la presa.

#### 4.7 Efecto de la dieta sobre PCD

La descripción de la conducta alimentaria reveló que *C. nasus* se alimenta solo de grillos en cautiverio y no tiene interés en alimentarse de presas como larvas de oruga. Debido a esta situación solo se pudo trabajar el efecto de la dieta en la serpiente *C. biserialis* la cual generalmente si logra alimentarse de los dos tipos de presa.

Se utilizaron 16 serpientes *Conopsis biserialis* las cuales fueron divididas en dos grupos, uno de 7 individuos y de 9 individuos todos mantenidos en sus contenedores de plástico original (20 x 30 x 10 cm). Los contenedores cerrados con tapas ventiladas fueron colocados en un lugar tranquilo y sin tránsito dentro del Laboratorio de Herpetología del Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales (INIRENA). Cada contenedor contuvo sustrato esterilizado comercial Peat-Most, además de un tazón de agua y una roca para apoyo durante la muda. El agua estuvo disponible ad libitum, los contenedores de cada serpiente estuvieron mantenidos bajo fotoperiodo natural 12:12 horas luz-noche a una temperatura entre 27-28°C. Las serpientes fueron monitoreadas bajo estas condiciones antes y durante la experimentación.

Cada grupo de serpientes fue elegido aleatoriamente y fueron alimentadas durante un periodo de 60 días con una sola dieta, por ejemplo alimentación con grillos *Acheta domestica* (Grupo 1, referido como G1bis), alimentación con gusano de la cera *Galleria melonella* (Grupo 2, referido como G2bis). Los grillos fueron sacrificados para eliminar el estímulo de movimiento y cada tipo de alimento fue elegido del mismo tamaño para alimentar a todas las serpientes (Cruz-Neto y Andrade, 1993). Las serpientes fueron alimentadas antes y después del experimento con las mismos tipos de presas.

Para evaluar el uso de la quimiorrecepción para identificar las esencias de las presas yo utilizare el método conocido como evaluación para todos los grupos (Burghardt, 1967). Los extractos relacionados con los olores de las presas fueron preparados de acuerdo con la metodología básica desarrollada y estandarizada por Burghardt (1966, 1968) la cual es

descrita arriba. Yo utilice extractos con olor de grillo y gusano de harina como potenciales tipo de presa y agua destilada fue usada como control.

Los olores fueron ofrecidos en lugar aislado dentro del laboratorio y bajo una luz tenue a través de una arena o caja experimental construida de vidrio (25 X 25 X 20 cm), con un orificio central de un centímetro de diámetro en cada una de las cuatro paredes frontales de la caja, estos orificios serán sellados parcialmente con cinta hasta su correspondiente uso y la caja fue cubierta en su alrededor con papel blanco excepto la cubierta superior. Se utilizaron isopos esterilizados (marca PROTEC) de 15 centímetros de largo, los cuales primero fueron sumergidos en los extractos de presa previamente preparados y después fueron introducidos completamente por algún orificio de la caja hacia donde está la serpiente, los isopos fueron acercados aproximadamente a un centímetro (1cm) en frente de la nariz de la serpiente por 60 segundos. Las conductas fueron filmadas con una cámara Panasonic modelo SDR-H101 colocada sobre un tripie y enfocada hacia adentro de la arena experimental.

La alimentación fue suspendida al menos 15 días antes de cualquier experimento en todas las serpientes. Los individuos fueron elegidos aleatoriamente y colocados en el centro de la arena experimental 30 minutos antes de cualquier prueba para permitir la habituación de las serpientes al nuevo ambiente. Todos los tratamientos (olores) fueron repetidos tres veces por individuo en orden aleatorio, los tratamientos fueron aplicados uno del otro con una hora de intervalo entre tratamiento para permitir a las serpientes regresar a su estado de reposo y conducta original. La arena experimental fue limpiada con un detergente industrial (Extran) utilizado para limpiar material de cristalería de laboratorios y posteriormente enjuagada con agua destilada para eliminar los olores del experimento anterior. El descanso de los individuos y mantener la asepsia de la caja experimental, minimiza la posibilidad de que un experimento influya en los resultados de un subsecuente experimento (Coleman 2012).

Continué utilizando el índice TFAS (R) de Cooper y Burghardt (1990) para evaluar la habilidad de *C. biserialis* para detectar y discriminar olores de presas. Para cada grupo experimental yo calcule el índice TFAS (R) al igual que variables comunes como la tasa de larguetos y el periodo de latencia en relación a un particular tipo de presa. Por lo tanto

obtuve índices para las presas incluidas en la reciente dieta así como para aquellas que no fueron incluidas en su dieta, es decir olores nuevos para las serpientes.

#### 4.8 Análisis estadístico

Se calculó el promedio máximo de la respuesta de lengüeteos y periodos de latencia de todos los individuos, cada individuo fue presentado con cada uno de los olores en orden aleatorio y los experimentos con cada olor fueron presentados una sola vez por individuo. Se obtuvo el índice TFAS (R) para cada olor por cada individuo, así como el promedio TFAS de cada tratamiento en cada especie, estas frecuencias de conducta registradas fueron los valores usados para representar el nivel de interés de cada especie mediante graficas de barras con error estándar y sus valores estadísticos adjuntos.

Para explorar la relación que hay entre las conductas quimioceptivas (tasa de lengüeteo y periodo de latencia) se utilizó un modelo lineal con un análisis de Correlación de Pearson, seguido de un análisis de Regresión para cada especie. En este análisis solo se transformaron los datos del periodo de latencia con la función Log10. Debido a la usencia de normalidad y homogeneidad de varianzas en un modelo lineal para explorar la relación que hay entre el tamaño de las serpientes y su respuesta más común (número de lengüeteos), se elaboró un análisis GLM con error de distribución -Quasipoisson- y con valor “Chi-Cuadrado” para explorar los estímulos químicos más fuertes que influyen en la tasa de lengüeteos de las dos especies de serpientes y la relación que guarda este comportamiento con el tamaño de la longitud hocico cloaca (LHC) de los individuos.

Se utilizó un análisis GLM -Quasipoisson- debido a la falta de varianzas homogéneas y distribución normal en los datos (conteos) para evaluar el efecto de la dieta (dos tratamientos) sobre la respuesta de discriminación química de presas (usando índice TFAS) en la especie *Conopsis biserialis*. Los datos obtenidos a partir del cálculo de TFAS(R) se presentan como promedios con desviación estándar y rango en una tabla de comparaciones entre los diferentes bloques.

Siete análisis de GLM -Quasipoisson- fueron usados para evaluar la respuesta conjunta y separada de las dos especies de serpientes a todos los olores o tratamientos (8) en todo el experimento que involucro la capacidad de identificación y percepción química y la habilidad de discriminación química de presas (tasa de lengüeteos, periodo de latencia e

índice TFAS). Para evaluar el efecto de los estímulos químicos sobre la respuesta individual de cada especie de serpiente *Conopsis* continué utilizando estadística no paramétrica debido a la falta de homocedasticidad y normalidad de los datos. Para las respuestas quimiosensoriales entre adultos y juveniles (intraespecíficas) se utilizó otros cuatro análisis de GLM -Quasipoisson- con la función adjunta para resumir las comparaciones del efecto de cada estímulo químico sobre la conducta quimiosensorial de cada estadio de tamaño (juvenil y adulto) en las dos especies de serpientes *Conopsis*.

En el análisis GLM para cada conducta (variable respuesta), primero se produjeron modelos saturados que consideraron todos los factores y las interacciones posibles. Posteriormente, estos modelos se simplificaron al eliminarse las interacciones y/o términos no significativos (Crawley, 2007).

Un solo análisis (Split-Plot) de varianza (ANOVA) fue usado para evaluar las diferencias morfo métricas (tamaño, peso e índice de condición corporal) en adultos y juveniles de cada especie de serpiente *Conopsis*. Para todos los análisis se utilizará un alfa fijo o menor de 0.05. Todos los procedimientos estadísticos fueron realizados en el paquete estadístico R. 2.15 (R Core Development Team, 2012). Los datos fueron reportados con promedios y errores estándar.

Por ultimo para la descripción del comportamiento alimentario de las serpientes *Conopsis* se presenta un etograma de las secuencias y pautas de comportamiento depredador comúnmente observado durante las sesiones de alimentación en cautiverio.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Clases de tamaños (edad) de las serpientes

Al analizar estadísticamente el peso (g), el tamaño LHC (Longitud Hocico-Cloaca) en centímetros y la condición corporal de cada individuo de las dos especies del género *Conopsis*, se observan diferencias significativas en las dos clases de tamaños (adultos y juveniles). En la especie *C. biserialis* se ubicaron los organismos adultos con un rango de LHC que va de 19 cm a 28 cm y en la clase 2 se ubicaron los organismos con LHC que va de 11.5 cm a 18.5 cm. En la especie *C. nasus* los rangos de LHC de la clase 1 van de 21 cm a 32 cm y en la clase 2 los rangos de LHC que van de 9.8 cm a 20.5 cm. Para fines de este estudio la clase 1 representa al estadio adulto y clase 2 al estadio Juvenil (Fig 9).

El tamaño ( $X= 24 \pm 0.6$  cm) y peso de los adultos de *C. biserialis* ( $X= 12.2 \pm 0.6$  g) fueron significativamente mayores que el tamaño ( $X= 14.7 \pm 0.8$  cm) y el peso de los juveniles ( $X= 4.1 \pm 0.45$  g) (Tabla.2). Así mismo el tamaño ( $X=27.3 \pm 1.25$  cm) y peso de los adultos de *C. nasus* ( $X= 17.6 \pm 1.8$  g) fueron significativamente mayores que el tamaño ( $X= 16.2 \pm 1.65$  cm) y el peso de los juveniles ( $X= 5.0 \pm 0.82$  g) (Tabla 2). Por otro lado el índice de condición corporal es estadísticamente ( $<0.001$ ) mayor en adultos que en juveniles de cada especie, proporcionalmente siendo casi un 50 % mayor el valor entre adultos y juveniles (Tabla 2).

**Tabla 2.** Comparaciones morfológicas de adultos y juveniles entre las dos especies.

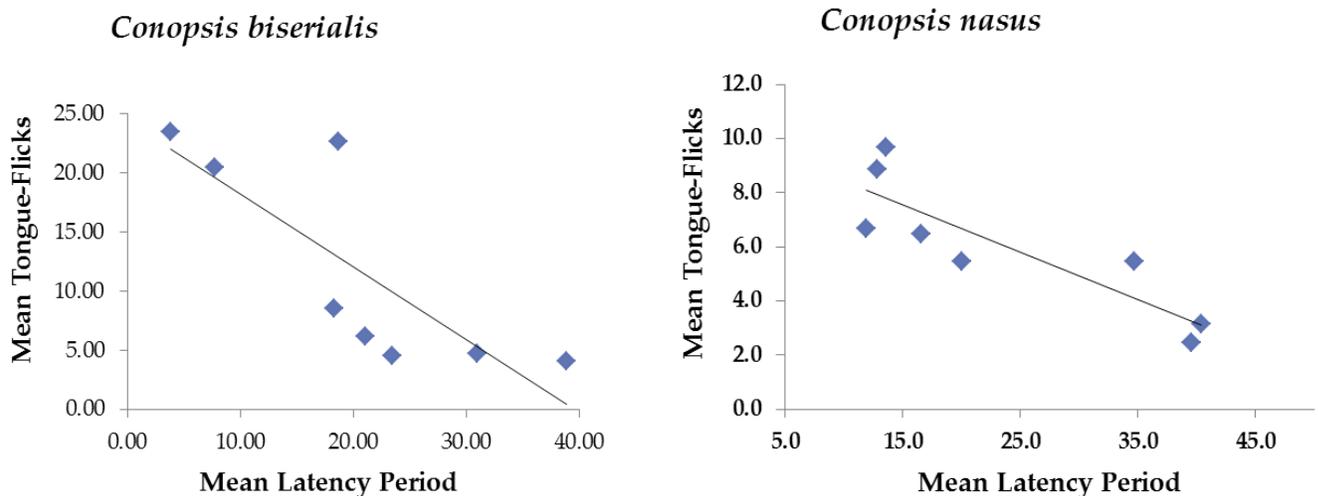
Características	Adultos (21)	Juveniles (17)	df;F	P
<i>C. biserialis</i>				
Peso (g)	$12.2 \pm 0.66$	$4.1 \pm 0.45$	1,34; 84.7	0.001
Tamaño LHC (cm)	$24 \pm 0.66$	$14.7 \pm 0.82$	1,34; 72.23	0.001
Condición corporal	$0.51 \pm 0.02$	$0.27 \pm 0.07$	1,34; 60.53	0.001
<i>C. nasus</i>				
Peso (g)	$17.6 \pm 1.8$	$5.0 \pm 0.82$	1,34; 84.7	0.001
Tamaño LHC (cm)	$27.3 \pm 1.25$	$16.2 \pm 1.65$	1,34; 72.23	0.001
Condición corporal	$0.64 \pm 0.05$	$0.30 \pm 0.03$	1,34; 60.53	0.001



**Fig. 9.** De izquierda a derecha juvenil y adulto de *C. biserialis* y de derecha a izquierda adulto y juvenil de *C. nasus* (Fotos: Ernesto Raya-García).

### 5.2. Respuestas interespecíficas durante la Discriminación Química de Presas (PCD)

Todas las serpientes respondieron a todos los estímulos presentados. El número de extrusiones linguales dirigidas hacia el hisopo de algodón está directamente correlacionado de forma negativa con el tiempo de latencia (periodo antes de la primera extrusión lingual) hacia cada uno de los seis estímulos químicos de presas así como para los dos controles en la serpiente *C. biserialis* (Pearson's correlation,  $t = 3.91$ ,  $df = 6$ ,  $r = 0.84$ ,  $P < 0.01$ ) ( Fig. 10) y en la serpiente *C. nasus* (Pearson's correlation,  $t = 4.21$ ,  $df = 6$ ,  $r = 0.86$ ,  $P < 0.01$ ) (Fig.11 ).



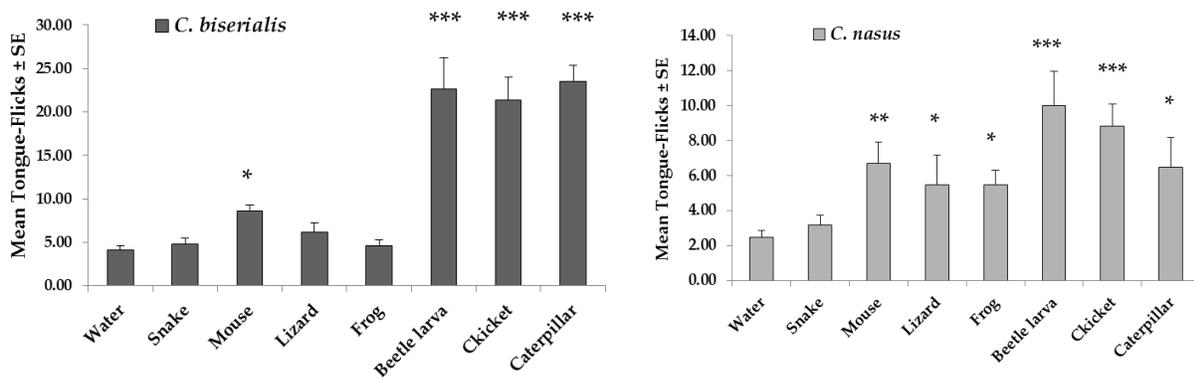
**Fig. 10 y 11.** De la izquierda a derecha correlación negativa y significativa entre dos conductas de quimiorrecepción de dos especies simpátricas del género *Conopsis*.

**Dentro de cada especie.** El promedio de los lengüeteos dentro de cada especie de serpiente está representando en las figuras 12 y 13 y el promedio del tiempo de latencia en las figuras 15 y 16. Se encontró un efecto significativo del estímulo químico de la presa sobre el promedio de lengüeteos en la serpiente *Conopsis biserialis* (GLM -Quasipoisson-:  $\chi^2=183.6$ , Gl=7,  $P < 0.001$ ) y en la serpiente *Conopsis nasus* ( $\chi^2=31.2$ , Gl=7,  $P < 0.001$ ) así como también en el periodo de latencia de la especie *C. biserialis* ( $\chi^2=105.9$ , Gl=7  $P < 0.001$ ) y de la especie *C. nasus* ( $\chi^2=41.7$ , Gl=7,  $P < 0.001$ ). En ambas especies, existe una mayor respuesta quimiosensorial en cuanto al número de lengüeteos hacia estímulos de presas invertebradas que por cualquier estímulo de alguna presa de vertebrados. Destacando una mayor predilección química por las orugas o gusano de la cera (*Galleria melonella*), larvas de escarabajo (*Phyllofaga sp.*) y grillos (*Acheta domestica*). Todos los demás olores no presentaron valores mayores. El periodo de latencia fue variable en *C. nasus* y más gradual en *C. biserialis* según las preferencias quimiosensoriales de cada especie.

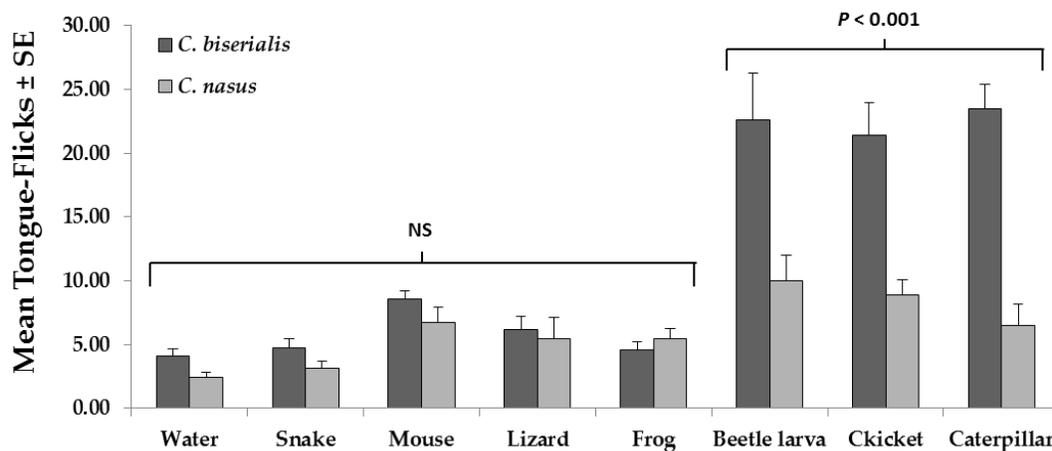
**Entre las dos especies.** El análisis de GLM -Quasipoisson- con la especie como factor de variación produce diferencias significativas solo en una respuesta quimiosensorial hacia todos los ocho estímulos químicos (Fig.14). Los diversos estímulos químicos de las presas provocan diferencias significativas en el número de lengüeteos de ambas especies (Efecto de la especie:  $\chi^2=49.4$ , Gl=1,  $P < 0.001$ ). Sin embargo, el análisis de GLM-Quasipoisson- no detecta diferencias significativas en la respuesta conocida como periodo de latencia de ambas especies hacia los estímulos químicos de las presas (No efecto de la especie:  $\chi^2=2.8$ , Gl=1,  $P > 0.05$ ).

Para ambas especies el análisis estadístico de Tukey demuestra que únicamente los estímulos químicos del grillo, larva de coleóptero (gallinita) y la oruga o gusano de la cera provocan diferencias significativas en el promedio de lengüeteos dirigidos ( $P < 0.001$ ). Debido a que el análisis Chi cuadrada del GLM no detecto un efecto de la especie sobre el periodo de latencia (Fig. 17), el análisis de Tukey-Kramer es incapaz de hallar diferencias significativas entre la respuesta de latencia de las dos especie hacia alguno de los 8 estímulos químicos.

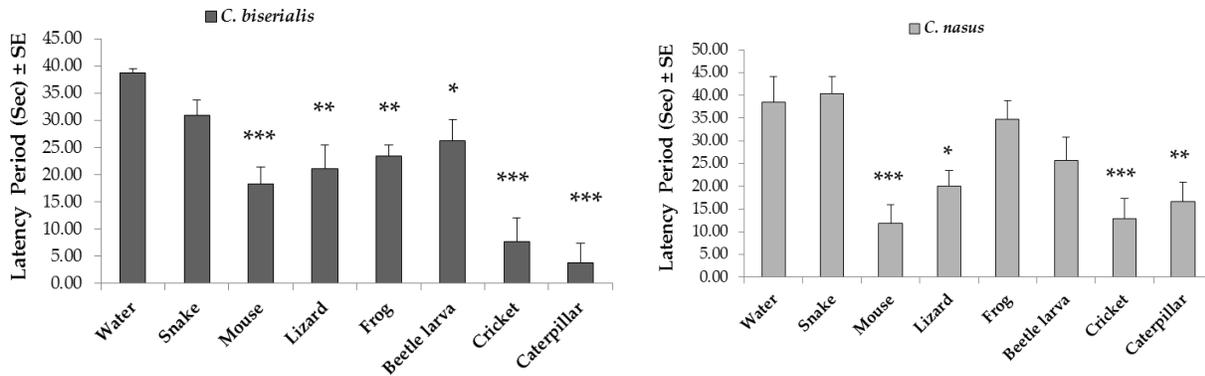
Pocas serpientes mordieron el hisopo de algodón y todos los individuos fueron de la especie *C. biserialis* mientras que *C. nasus* nunca intento morder el hisopo. De los siete ataques registrados, tres fueron inducidos por el olor del grillo y cuatro por el olor de oruga.



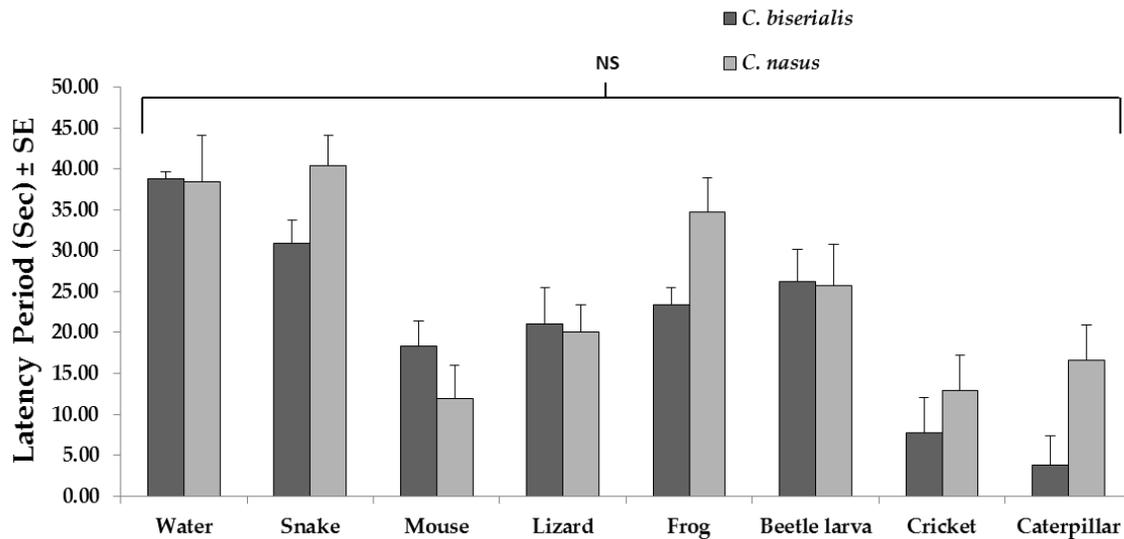
**Fig. 12 y 13.** Grafica de izquierda a derecha que representa las extrusiones linguales dirigidas (promedio  $\pm$  error estándar) por las serpientes *C. biserialis* (barras oscuras) y *C. nasus* (barras grises) en respuesta a estímulos químicos de presas de vertebrados e invertebrados. Los asteriscos arriba de las barras indican los niveles de significancia \*\*\* =  $P < 0.001$ , \*\* =  $P < 0.01$ , \* =  $P < 0.05$ .



**Fig. 14.** Grafica que representa la comparación general de la conducta de extrusiones linguales dirigidas por ambas especies de serpientes como respuesta a estímulos químicos de presas vertebradas e invertebradas. NS= no significativo.



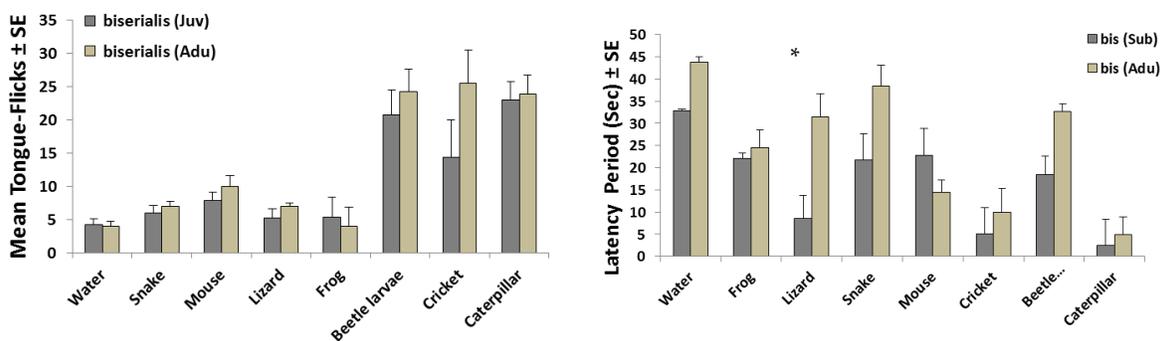
**Fig. 15 y 16.** Grafica de izquierda a derecha que representa el periodo de latencia (promedio ± error estándar) por las serpientes *C. biserialis* (barras oscuras) y *C. nasus* (barras grises) en respuesta a estímulos químicos de presas de vertebrados e invertebrados. Los asteriscos arriba de las barras indican los niveles de significancia \*\*\* =  $P < 0.001$ , \*\* =  $P < 0.01$ , \* =  $P < 0.05$ .



**Fig. 17.** Grafica que representa la comparación general de la conducta conocida como periodo de latencia por ambas especies de serpientes como respuesta a estímulos químicos de presas vertebradas e invertebradas. NS= no significativo.

### 5.3. Respuestas intraespecíficas durante la Discriminación Química de Presas (PCD)

El promedio de las extrusiones linguales y el periodo de latencia de las dos clases de tamaño (edad) de la serpiente *Conopsis biserialis* está representando en la figura 18 y 19 respectivamente. El análisis de GLM -Quasipoisson- no encontró un efecto significativo de la edad sobre el promedio de lengüeteos en la serpiente *Conopsis biserialis* hacia los diferentes estímulos químicos (Chi Test:  $\chi^2= 1.3$ , Gl=1,  $P > 0.05$ ) y tampoco en la serpiente *Conopsis nasus* (Chi Test:  $\chi^2= 2.4$ , Gl=1,  $P > 0.05$ ) (Tabla 3). Sin embargo de manera contrastante la edad si marco un efecto significativo sobre el periodo de latencia de la especie *C. biserialis* ( $\chi^2= 13.3$ , Gl=1,  $P < 0.001$ ) pero no fue así para la especie *C. nasus* ( $\chi^2= 0.7$ , Gl=1,  $P > 1$ ) (Tabla 3). El análisis estadístico de Tukey de múltiples comparaciones demuestra que únicamente el estímulo químico de la lagartija provoca diferencias significativas en el promedio del tiempo de latencia en ambas edades de la serpiente *C. biserialis* ( $P < 0.05$ , Fig. 19). En términos generales las dos clases de tamaño de ambas especies no muestran diferencias significativas en sus habilidades quimiosensoriales. Existe muchas variación en las conductas de *C. nasus*, mientras que *C. biserialis* muestra una tendencia más estable y muy similar a la conducta general de toda la especie.



**Fig. 18 y 19.** De izquierda a derecha grafica que representa las extrusiones linguales dirigidas y el periodo de latencia (promedio ± error estándar) por las serpientes juveniles (barras grises) y adultas (barras cafés) de la especie *C. biserialis* en respuesta a diferentes estímulos químicos de presas de vertebrados e invertebrados.

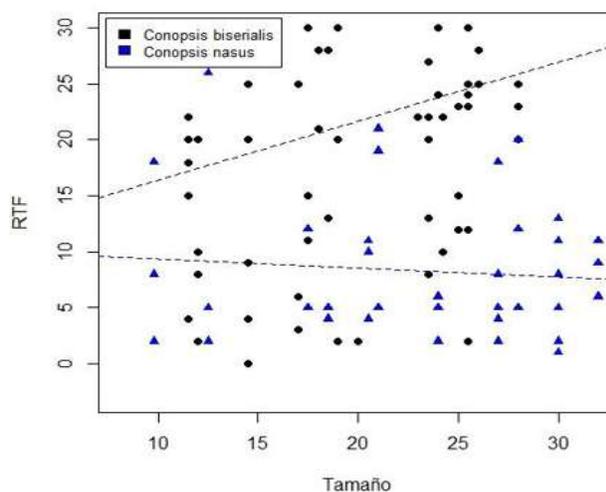
MEAN TONGUE-FLICKS			
Source of variation	df	X <sup>2</sup>	P
Age	1	2.4	NS
Treatment	7	33.8	< 0.001
Age:Treatment	7	6.7	NS

LATENCY PERIOD			
Source of variation	df	X <sup>2</sup>	P
Age	1	0.7	NS
Treatment	7	49.3	< 0.001
Age:Treatment	7	17.6	< 0.05

**Tabla 3.** Resultados estadísticos del modelo lineal generalizado (GLM) usado para analizar las extrusiones linguales dirigidas y el periodo de latencia en las serpientes *C. nasus*. Los términos evaluados en el modelo fueron Edad (Age), tratamiento (Treatment) y la interacción entre estos términos.

Un análisis adicional exploró de manera similar pero estadísticamente diferente los efectos de la edad (tamaño: considerado como medida continua) sobre la respuesta quimiosensorial más común (tasa de lengüeteo). Sin embargo, nuevamente no se encontró relación alguna entre el tamaño y la conducta de extrusiones linguales en ambas especies del género *Conopsis* ( $\chi^2= 0.6$ ,  $df= 1$ ,  $P > 1$ , Fig. 20). Aunque parece que existe una relación positiva entre el tamaño de la especie *C. biserialis* y su respuesta quimiosensorial (Fig. 20), esta es marginalmente significativa debido a la alta variación de los datos por lo cual no se consideró confiable.



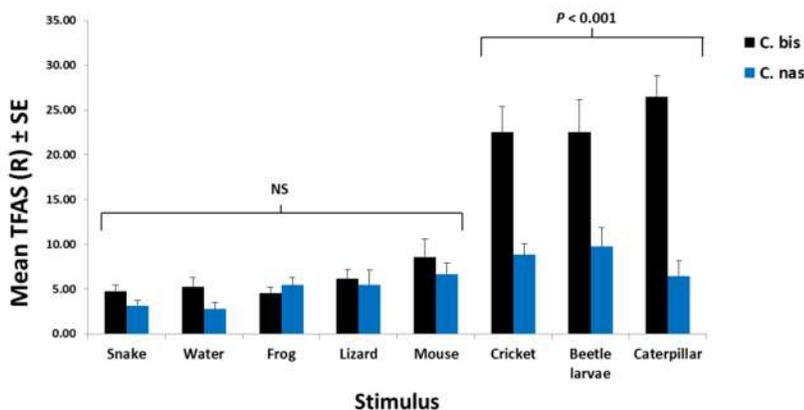
**Fig. 20.** Figura que representan la relación entre el tamaño (cm) y el número de extrusiones linguales (lengüeteos dirigidos) por cada especie *Conopsis* hacia los estímulos químicos de invertebrados.

### 5.3. Intensidad de la respuesta predatoria

Dentro de la serpiente *C. biserialis* hubo un efecto significativo del estímulo químico de presa sobre la intensidad de la fuerza predatoria ( $H_{7,176} = 72.25$ ,  $P < 0.001$ , Fig. 18). Los controles permanecieron con un TFAS bajo y los estímulos químicos de la rana, lagartija, ratón, grillo, larva de escarabajo y oruga desencadenan de forma respectiva y creciente un aumento en el TFAS de la serpiente, siendo los más importantes los últimos tres de derecha a izquierda (Fig. 18).

Dentro de la serpiente *C. nasus* hubo un efecto significativo del estímulo químico de presa sobre la intensidad de la fuerza predatoria ( $H_{7,112} = 29.68$ ,  $P < 0.001$ , Fig. 18). Los estímulos químicos más fuertes que provocaron una elevación en el TFAS pertenecen al olor de invertebrados entre los que destacan el grillo y la larva de escarabajo. La esencia de oruga provocó un retroceso en el TFAS de esta especie (Fig.18).

El índice de lengüeteo-ataque (TFAS R) fue significativamente diferente en las dos especies de serpientes (Kruskal-Wallis:  $H_{1,288} = 11.92$ ,  $P < 0.001$ ) indicando un nivel de respuesta conductual diferente en las dos especies de serpientes. El puntaje promedio obtenido por la especie *Conopsis biserialis* es de  $13.01 \pm 13.95$  TFAS versus la serpiente *Conopsis nasus* que obtuvo un puntaje de  $6.07 \pm 5.26$  TFAS. El análisis de Tukey-Kramer indica diferencias significativas en tres tratamientos Oruga, Grillo y Larva de Escarabajo (todas,  $P < 0.001$ ). Las demás respuestas sensoriales hacia los 5 estímulos químicos restantes no son significativamente diferentes entre sí.



**Fig. 21.** Grafica que representa las comparaciones del índice de intensidad predatoria (TFAS R) ± error estándar en las dos especies de serpientes del genero *Conopsis*. El

asterisco arriba de las barras indica diferencias significativas ( $P < 0.001$ ). NS= no significativo.

#### 5.4. Conducta alimentaria

La conducta alimentaria asociada con la localización, rastreo y ataque de presas fue similar entre *C. nasus* y *C. biserialis*. Los promedios y rangos de las conductas observadas durante su alimentación con cada tipo de presas están en la Tabla 3. En todos los ensayos las serpientes fueron inicialmente atraídas por el movimiento de la presa (grillo o gusano de la cera). Esto produjo un notable cambio en la conducta de las serpientes que estaban en descanso, una vez que la presa se movía dentro de su campo de visión, ellas iniciaban su conducta de exploración del alimento, desenroscándose primero, con movimientos rectos y lentos exploraban quimio-sensorialmente el ambiente de 5 a 10 cm<sup>2</sup> donde detectaban la presencia de su presa, cada vez que la presa cambiaba de lugar las serpientes orientaban rápidamente su cabeza hacia el sitio donde se movía la presa, una vez que estuvieron cerca de sus presas elevaban su cabeza a pocos centímetros del sustrato y con relativamente pocas extrusiones linguales realizaban la búsqueda química, sin embargo en algunos casos si las presas no se movían las serpientes eran incapaces o tardan mucho más de lo inusual en capturarlas, aparentemente su campo visual para detectar presas también está acoplado a su capacidad quimiosensorial y quizás sus ojos insuficientemente solo sean capaces detectar los movimientos lentos o bruscos de sus presas. Algunas individuos más osados evitaban perder el rastro de su presa y las perseguían, otros sin embargo eran más tímidos y si la presa salía de su campo de detección visual y químico no se aventuraban a buscarla centímetros más lejos de su zona de confort y seguridad.

##### 5.4.1. Grillos

Las dos especies de *Conopsis* aceptaron bien bajo condiciones de cautiverio el grillo (*Acheta domestica*). Las serpientes atacaban y capturaban a los grillos entre 1 o dos centímetros de distancia, la zona de la mordida comúnmente eran sobre el dorso de la presa (50%) o por su parte anterior (50 %). Aparentemente *C. biserialis* toma más tiempo que *C. nasus* en observar y asegurarse de la identidad de la presa (Tabla 3). De la misma manera

*C. biserialis* era ligeramente más lenta que *C. nasus* para buscar y capturar a los grillos (Tabla 3). Cuando algunos individuos capturaban al grillo entre sus mandíbulas retrocedían hacia algún lugar seguro donde deglutirlo ya sea debajo del sustrato o de una roca o tazon de agua (Fig. 19). Las serpientes más pequeñas enroscan su cuerpo y llevan a la presa hacia adentro pero sin hacer ninguna constricción las más grandes simplemente capturan a la presa y la iban tragando poco a poco. El tiempo que tardaron en ingerir completo el alimento fue muy similar en ambas especies de serpientes (Tabla 3). Algunos individuos de ambas especies mostraron destreza al ser excelentes cazadoras, generalmente capturaban al grillo en el primer intento (Fig. 19), sin embargo en ambas especies el promedio general de ataques necesarios antes de capturar definitivamente a la presa fue muy parecido estando entre 4 y 5 intentos por individuo. Cuando una serpiente fallaba un ataque sobre el grillo terminaba mordiendo parte del sustrato del terrario, el cual quedaba parcialmente atorado en sus mandíbulas. Sin embargo las serpientes resolvían este problema moviendo sus mandíbulas de arriba y abajo y de un lado a otro hasta que lograban expulsar el sustrato de su boca. En algunas ocasiones durante ensayos de alimentación a *C. nasus* en un terrario donde estaban tres o más individuos adultos, observe que sin un grillo pasaba cerca del cuerpo de una serpiente y esta misma serpiente se movía cercas de otra, esta última la atacaba en la zona del cuerpo donde estuvo el grillo. La serpiente atacada comenzaba a moverse bruscamente por la mordida de su compañera y después de pocos segundos era liberada de las mandíbulas quizás debido al darse cuenta que no era un grillo lo que estaba mordiendo. Esta observación deja de manifiesto el poder de atracción que tienen las marcas químicas olorosas sobre la conducta de esta especie.

#### **5.4.2.1. Gusano de la cera (oruga)**

De las dos especies de serpientes solamente *Conopsis biserialis* se alimentó de larvas de lepidóptero (orugas). Aunque no todos pero si la mayoría de individuos aceptaron ingerir este tipo de presa. Los promedios obtenidos del tiempo invertido en la observación de esta presa no difieren del tiempo de asecho con el grillo (Tabla 3). Al ser una presa lenta la oruga es más fácil que la serpiente la localice y capture dentro de su rango de cacería, debido a esto solamente tarda en promedio una tercera parte de un minuto en lograrlo

(Tabla 3). Observe que la oruga al no presentar un exoesqueleto queratinizado como el grillo y al tener una forma tipo cilíndrica es más fácil de ingerir por la serpiente, lo cual le confiere un ahorro de tiempo y esfuerzo (Fig. 20, Tabla 3). Los ataques son certeros al primer intento y casi siempre dirigidos por el dorso o por la parte trasera de la presa a una distancia aproximada a un centímetro de distancia (Fig. 10).



**Fig. 22.** En la izquierda una hembra *C. nasus* alimentándose de un grillo, y **Fig. 23** en la derecha una hembra de *C. biserialis* alimentándose de un gusano de la cera (oruga).

**Tabla 4.** Datos de la conducta de alimentación de *Conopsis biserialis* y *Conopsis nasus*. Las presas fueron grillos y orugas de lepidóptero, los datos están representados con media,  $\pm$  Error estándar (SE) y Rango, las líneas punteadas significan ausencia de comportamiento.

	<i>C. biserialis</i> (n=12)		<i>C. nasus</i> (n=13)	
	Grillo	Oruga	Grillo	Oruga
<b>Observacion de la presa (min.)</b>				
Media	0.15	0.17	0.08	-----
SE	0.04	0.03	0.01	-----
Rango	0.03-0.43	0.06-0.39	0.03- 0.15	-----
<b>Busqueda y captura (min.)</b>				
Media	7.38	0.33	5.7	-----
SE	1.09	0.04	0.96	-----
Rango	1.2-12.5	0.15-0.55	0.2-10	-----
<b>Ingesta completa (min.)</b>				
Media	3.94	1.83	3.8	-----
SE	0.3	0.21	0.67	-----
Rango	2.6-6.2	1.1-2.7	2.2-9	-----
<b>Numero de ataques</b>				
Media	5.6	1.1	4.8	-----
SE	1.26	0.12	0.58	-----
Rango	1-15	1-2	1.0-8	-----

### 5.5. Efecto de la dieta

Todas las serpientes de los dos grupos dirigieron extrusiones linguales (Tongue-Flicks) hacia el hisopo de algodón impregnado con cada uno de los tres tratamientos (Tabla 4). Un análisis preliminar revela la falta de distribución normal y heterogeneidad de las varianzas en las extrusiones linguales (TF's), índice de intensidad predatoria (TFAS) y periodo de latencia (LP) (Shapiro:  $P > 0.05$ ). Debido a esto se continuó utilizando los análisis de Kruskal-Wallis. Se encontraron diferencias significativas en el número de Tongue-Flicks dirigidos hacia los estímulos químicos del grupo uno (G1) que fueron previamente alimentado con grillos ( $H=18.05$ ,  $G1=2$ ,  $P < 0.001$ ) y también en el grupo dos (G2) que fueron previamente alimentados con orugas ( $H= 7.33$ ,  $G1=2$ ,  $P < 0.05$ ). Solamente 4 hisopos de algodón fueron mordidos con diferentes periodos de latencia, 3 fueron con serpientes del grupo 1 y una serpiente del grupo 2. Todos los hisopos mordidos contenían estímulos químicos olorosos de grillo (Fig. 21).

Durante la mayoría de los ensayos, no observe ningún comportamiento hacia el hisopo de algodón que estuviera relacionado con alguna conducta defensiva y si esto ocurría se dejaba a la serpiente unos minutos en reposo antes de volver a intentar cualquier ensayo. Todas las serpientes se alimentaron bien después de cualquier prueba sin ningún problema.

El índice de Lengüeteo-Ataque (TFAS) revela la predilección o intensidad del comportamiento depredador sobre los estimulantes químicos de las presas. En los dos grupos experimentales, el efecto del olor o estímulo químico sobre el TFAS fue significativo para G1 ( $H=19.36$ ,  $G1=2$ ,  $P < 0.001$ ) al igual que en G2 ( $H=8.22$ ,  $G1=2$ ,  $P < 0.05$ ). En los dos grupos la respuesta más fuerte fue hacia los estímulos químicos de los invertebrados que al control (Tabla 4). Sin embargo, estadísticamente al comparar el índice TFAS de los grupos G1 y G2 nos indica que todas serpientes de ambos grupos respondieron con similar intensidad a los estímulos químicos del olor de las presas invertebradas, a pesar de su previa dieta ( $H= 2.72$ ,  $G1=1$ ,  $P > 0.05$ ) (Tabla 4). Por lo que el análisis de Tukey no detecta ninguna diferencia significativa entre el efecto del estímulo grillo y la oruga hacia el índice TFAS de los dos grupos (Tabla 4). Curiosamente y contrario a la respuesta TFAS, la

conducta conocida como número de lengüeteo o tasa de extrusión lingual, fue por si sola significativamente diferente entre los grupos G1 y G2 ( $H=5.76$ ,  $G1=1$ ,  $P < 0.05$ ), (Tabla 4).

**Tabla 5.** Valores (N=número, Mean=promedio, SD=Desviación estándar y Range=Rango) y resumen estadísticos representados de las conductas “Tongue-Flick Attack Score” (TFAS(R)), número de lengüeteos (TF’s), periodo de latencia (LP) y número de mordidas (Attacks) de las serpientes *Conopsis biserialis* alimentadas con dos tipos de presas (G1 y G2). Cr= grillo, Ca= oruga y Dw= agua destilada (control).

	Raised with caterpillar (G2)			GLM	Raised with cricket (G1)			GLM	Interaction		
	Cr	Ca	Dw	P Value	Cr	Ca	Dw	P Value	Stimulus/Group		
<b>TFAS (R)</b>											
<b>N</b>	7	7	7		9	9	9		G1 x G2	P	
<b>Mean</b>	34.5	18.1	3.5	< 0.001	41	23.6	5.3	< 0.001	Dw	Dw	NS
<b>SD</b>	22.6	14.9	1.3		16.3	4.4	1		Ca	Ca	NS
<b>Range</b>	2--60	2--38	2--6		25--61	18--28	3--6		Cr	Cr	NS
<b>TF's</b>											
<b>N</b>	7	7	7		9	9	9		G1 x G2	P	
<b>Mean</b>	16.7	18.1	3.5	< 0.001	33	23.6	5.3	< 0.001	Cr	Ca	0.01
<b>SD</b>	8.8	14.9	1.3		15	4.4	1		Ca	Cr	NS
<b>Range</b>	2--28	2--38	2--6		21--53	8--28	3--6		Cr	Cr	NS
<b>LP</b>											
<b>N</b>	7	7	7		9	9	9		G1 x G2	P	
<b>Mean</b>	2.5	2.5	48	< 0.001	4.6	6.3	50.5	< 0.001	Dw	Dw	NS
<b>SD</b>	1.5	0.9	8.3		4	3	2.3		Dw	Cr	0.001
<b>Range</b>	2--6	2--4	36--58		2--10	3--10	48--55		Ca	Dw	0.001
<b>ATTACKS</b>	3	0	0		1	0	0				



**Fig. 24.** Individuo adulto *C. biserialis* atacando un hisopo de algodón impregnado con estímulos químicos de grillo (Foto: E. Raya-García 2015).

## 6. DISCUSIÓN

### 6.1. Percepción química de presas

En mis resultados el comportamiento de lengüeteo de adultos y juveniles *C. biserialis* es significativamente mayor hacia el olor de presas de invertebrados (grillo, larva de lepidóptero y larva de coleóptero) que a cualquier otro olor o control. Mientras que este comportamiento en adultos y juveniles de *C. nasus* fue ligeramente mayor hacia las mismas presas de invertebrados pero no significativo entre esos tres estímulos debido a mucha variación existente.

Mis resultados de reconocimiento e identificación química de presas a través de las conductas quimiorreceptivas (periodo de latencia y la tasa de lengüeteos) son similares con los resultados reportados para otros grupos de ofidios como serpientes acuáticas *Thamnophis sirtalis* (Burghardt 1969) las cuales orientan fuertemente sus conductas predatorias hacia los estímulos químicos de peces y lombrices, de igual manera serpientes terrestres y falsas corales como *Lampropeltis getula* (Weldon and Schall 1984) conocidas por ser serpientes de hábitos ofiofágos y capaces de reconocer fuertemente los estímulos químicos de sus presas como serpientes de cascabel y cantiles. Por ultimo mis resultados de percepción química también son contundentes con lo reportado por Clark y Ramírez (2011) para serpientes escondidizas del desierto como las boas *Lichanura trivirgata* que tienen una alta capacidad quimiosensorial para detectar a roedores como su potencial alimento. Las pequeñas serpientes cripticas y fosoriales *Conopsis* tienen diferente tamaño, microhábitats y hábitos de vida que las especies de serpientes anteriormente ejemplificadas, pero juntas comparten una alta capacidad quimiosensorial para la identificación de presas y orientar su conducta predatoria.

Existen escasas investigaciones sobre las capacidades quimiosensoriales en serpientes pequeñas y con hábitos crípticos. Mis resultados sobre percepción química en las serpientes *Conopsis* son similares con los resultados reportados por Weaver y Kardong (2010) para una especie de serpiente *Contia tenuis* con características similares a las serpientes *Conopsis biserialis*, sin embargo, aunque ambas especies pueden reconocer química y específicamente a los invertebrados de madriguera como potencial alimento, difieren en sus respuestas debido al tipo de estímulo químico de su presa: *Contia tenuis*

tiene una respuesta quimiosensorial mas dirigida hacia babosas y *Conopsis biserialis* tiene una respuesta quimiosensorial mas dirigida hacia estados larvarios de lepidópteros y escarabajos. En general mis resultados sugieren que a pesar de su hábito de vida fosorial las especies de serpientes *Conopsis* estudiadas representan una percepción química bastante desarrollada para una apropiada identificación y divergencia en la percepción química de sus presas invertebradas, al menos dentro de su hábitat en Michoacán.

Por otro lado, no todas las serpientes perciben mejor la presencia de sus presas por medio de marcas olorosas en su ambiente. Un ejemplo contrastante con mis resultados es el estudio publicado por Saviola et al. (2012) quienes reportan que una especie de serpiente de talla grande *Drymarchon couperi* conocida como “limpiacampos” es capaz de exhibir una amplia habilidad visual por encima de la percepción química para identificar y reconocer a sus presas. Muchos investigadores concuerdan que la visión es otro modo sensorial que está involucrado en las conductas predatorias (Drummond, 1985) y debería de estudiarse su rol por separado o en conjunto con la actividad quimiosensorial para la apropiada identificación, búsqueda y captura de presas (eg. Saviola et al. 2011, 2012b). En algunas serpientes acuáticas y serpientes de cascabel ambas señales sensoriales (químicas y visuales) funcionan de manera acoplada e interactiva desde el inicio hasta el final de un evento de depredación (Chiszar et al., 1981 Terrick et al. 1995). Las serpientes *Conopsis* son pequeños animales crípticos, que quizás puedan presentar una última posibilidad perceptiva ligada a la capacidad mecanosensorial que tienen algunos reptiles de recibir e interpretar vibraciones para capturar a sus presas (Hetherington, 1989). Con un modo de vida fosorial similar al de las serpientes *Conopsis*, algunos animales vertebrados son capaces de usar e interpretar señales de peligro o de oportunidades para acceder rápido a recursos alimenticios, a través de la capacidad receptora de ondas de sonido o vibraciones subterráneas (Mason y Narins 2001).

## 6.2. Discriminación química de presas

La discriminación química de presas como conducta predatoria es una habilidad forrajera ampliamente extendida entre grupo squamata y fuertemente correlacionada con su tipo de dieta preferida (Cooper 2008; Cooper y Burghardt 1990). Mis resultados en esta área de

investigación en ecología de la conducta con ofidios muestran la presencia de la habilidad para discriminar y preferir entre presas de vertebrados e invertebrados como potencial alimento en las pequeñas serpientes *Conopsis*. Mis resultados son similares con las habilidades reportadas por Weaver et al. (2012) para las serpientes adultas y juveniles ojo de gato *Hypsiglena chlorophaea* que pueden discriminar entre presas de vertebrados e invertebrados, sin aparente diferencia entre estados ontogenéticos. Por otro lado, mis resultados son diferentes y contrastantes a los de Weaver debido a que las preferencias quimiosensoriales de *H. chlorophaea* están dirigidas hacia las presas de vertebrados, especialmente otras serpientes, y poca o nula respuesta hacia presa invertebradas como los grillos o arácnidos. En un escenario similar pero sobre discriminación química de presas endotermas (ratones) y ectotermas (lagartijas) Saviola et al. (2011) demuestra que hay una preferencia quimiosensorial diferente entre adultos y juveniles de la serpiente de cascabel *Crotalus viridis* hacia estos grupos de presas, siendo estas conductas directamente relacionadas con la dieta durante cada estado de desarrollo ontogenético.

Tener la habilidad para discriminar presas por medio de sus marcas químicas es una gran ventaja en términos de optimización del recurso alimenticio como por ejemplo la obtención de calorías y nutrientes, seguridad alimentaria, ahorro de tiempo y energía. Sin embargo, cuando las especies son simpátricas podrían especializarse en recursos diferentes (menor traslape de nicho) o compartir recursos similares (mayor traslape de nicho). En este sentido, la discriminación química de presas mediante el índice TFAS como indicador de preferencia de presas desarrollado por Burghardt (1968), demuestra que en tres serpientes simpátricas del género *Natrix* existe un marcado traslape de esta conducta en solo dos de ellas. Mis resultados, a diferencia de los de Burghardt demuestran que dos serpientes simpátricas del género *Conopsis* no traslapan sus conductas y por la tanto se entiende que sus preferencias tampoco. Otros estudios similares como los de Arnold (1992) encuentran diferencias en la conducta quimiorreceptiva de dos especies simpátricas de serpientes acuáticas (*Thamnophis elegans* y *Thamnophis sirtalis*) en tres zonas de simpatria. Lo que confirma la presencia de conductas adaptativas en respuesta a una separación de nicho alimenticio dentro de una misma zona.

Las múltiples relaciones presa-depredador y la evolución de la conducta predatoria animal son tópicos de interés para muchos investigadores conductistas en la actualidad. En

especial existen una serie de factores tanto extrínsecos como intrínsecos que pueden convertir problemática o difícil de identificar la presencia o ausencia de mecanismos evolutivos actuando sobre las especies y sus poblaciones (Roth y Johnson, 2004). Mi estudio de quimiorrecepción con serpientes no aborda la evaluación de todos aquellos posibles factores de variación que puedan sustentar un proceso de evolución conductual de los objetos de estudio de la presente investigación, ya que se trabajó con una sola población de cada especie y nunca se hicieron comparaciones con otras poblaciones, por lo tanto sería interesante en un futuro averiguar si existe una variación geográfica significativa en el comportamiento depredador de serpientes *Conopsis* de distintas poblaciones e identificar o no la presencia de mecanismos de adaptación genética, plasticidad fenotípica individual o una interacción de ambas (Arnold, 1981; Aubret et al. 2006, ). Se han demostrado la existencia de adaptaciones locales en la dieta y hábitat ligadas a la modificación de la conducta predatoria en muchas serpientes de amplios rangos geográficos (Arnold, 1992; Cooper, 2008), y ya que el género *Conopsis* ha resultado ser un buen modelo de estudio en conducta animal y cuyas poblaciones pueden estar suficientemente distribuidas dentro de México, es posible direccionar investigaciones sobre evolución de la conducta dentro de algunas poblaciones geográficamente distantes.

### **6.5. Dieta e identificación química en *Conopsis***

La información de la dieta en ambas especies es limitada y en la mayoría de los casos anecdótica por lo que son necesarios estudios más sólidos que revelen de manera más completa y analítica la ecología e historia natural de estas dos especies. Castañeda-Gonzalez et al. (2011) señalan la relevante presencia de larvas de lepidóptero y otros invertebrados como ortópteros y arácnidos en la dieta de *C. biserialis*. Al parecer esta serpiente es una especialista oligofaga (alimentación de pocas presas) que sean insectos de madriguera y mis datos de conducta predatoria sobre invertebrados son consistentes con lo reportado en su dieta, al menos con el grillo y con la larva de lepidóptero. Sin embargo, hubo un tercer estímulo químico proveniente de la larva de coleóptero (*Phyllophaga* sp.) la cual no está registrada en su dieta y que provocó un interés marcado en la conducta predatoria de *Conopsis biserialis*. Este resultado es interesante puesto que puede tratarse de

una micro-adaptación en la dieta de *C. biserialis*. Esta larva de Coleoptero (*Phyllophaga* sp.) conocida como gallinita por la gente de comunidades aledañas es considerada una plaga para las cosechas de maíz y otras plantas agrícolas ya que se alimenta de las raíces y provoca la muerte de la planta (Shannon y Carballo 1994; Morón, 2003). Esto ocasiona un daño y una pérdida económica para muchos agricultores. Sin embargo no es una presa que esté disponible todo el año, ya que sigue un ciclo biológico y la mayoría de las larvas o pupas ocurren a finales de lluvias y durante todo el otoño en lugar de colecta de esta tesis. Si para la serpiente *C. biserialis* la larva “gallinita” representara un fuerte alimento, el ambiente solo proporcionaría este recurso temporalmente.

Por otro lado Uribe-Peña et al. (1999) señalan que esta especie se alimenta también de las lombrices de tierra. Yo no evalué la detección química de la lombriz como presa ya que es un invertebrado que no logre detectar su disponibilidad en campo. Por otro lado el comportamiento de ocho crías de *C. biserialis* indica que no detectan químicamente a la lombriz como alimento (Raya-García et al. datos no publicados). Se ha comprobado que las lombrices de tierra son un alimento preferido en algunas especies de serpientes *Thamnophis* (Ver tabla 1), y se ha demostrado la habilidad de su capacidad quimiosensorial para detectarlas (Burghardt et al. 1988; Jiang et al. 1990). Sin embargo la información de lombrices como alimento potencial en adultos de *C. biserialis* es un dato bastante dudoso y si el caso fuera cierto habría que averiguar más sobre la existencia de algún cambio ontogénico en la dieta, variación geográfica en la conducta o si fue algún comportamiento errático-accidental o simplemente algo aprendido por experiencia (eg. Arnold, 1978,1992; Halloy y Burghardt, 1990; Lynd y Welsh, 1994).

Por otro lado existe un vacío de información sobre la dieta de la serpiente *Conopsis nasus*. Vázquez y Quintero (2005, 2007) mencionan que su dieta se basa en vertebrados como lagartijas, ratones u otras serpientes, mientras que mis resultados sugieren que la conducta de *C. nasus* no indica un marcado interés en depredar algún tipo de vertebrado terrestre. Por su parte Minton y Minton de Cervantes (1977) registraron algunas observaciones de la historia natural de *C. nasus* en el estado de Querétaro y observaron que su alimento preferido son arañas y sus sacos de huevo registrados en 5 de 6 estómagos y solo en un estómago registraron un grillo, esta última presa es acorde con mis resultados de conducta sugiriendo que los grillos si son detectados químicamente como presas. Sin

embargo la intensidad del estímulo químico no es lo suficientemente fuerte para marcar un cambio en su conducta predatoria, comparado quizás con el efecto de los demás estímulos de invertebrados. Existen especies como *Hypsiglena chlorophaea* que muestran un mayor desinterés por olor de ortópteros (grillos) debido a que es una especie que se alimenta de presas vertebradas y frecuentemente ophiófaga (Weaver, 2010).

En mi experimento no utilice estímulos químicos de arañas por lo que probablemente deberían ser consideradas en experimentos futuros para evaluar la conducta predatoria de *C. nasus* hacia diferentes familias de arañas. Por ejemplo la araña *Zorocrates* sp de familia Zorocratidae fue registrada como un tipo de presa desconocida para *Conopsis lineata* (García-Balderas et al. 2014), especie que puede tener zonas de simpatria con las dos especies de este estudio. Los arácnidos pueden ser también presas peligrosas para las serpientes por lo que se han reportado conductas aversivas hacia estímulos químicos de escorpiones (Weaver et al. 2012) esto debido a que alguno arácnidos tienen roles ecológicos como depredadores de serpientes (Anderson, 1956).

Además Minton y Minton de Cervantes (1977) también documentaron una conducta extraña probablemente de defensa en *C. nasus*. Colocaron una serpiente adulta con una lagartija del genero *Sceloporus* en una misma bolsa y después de un tiempo observaron como la serpiente constreñía a la lagartija sin embargo esta era demasiado grande para ser tragada por la serpiente y solo termino asfixiándola hasta matarla. En mis observaciones en cautiverio nunca registre una conducta similar con presas invertebradas.

En una nueva descripción del tipo de presas que consume *C. nasus*, Ramírez-Bautista et al. (2014) y Uribe-Peña et al. (1999) describen que su dieta es a base de Coleopteros, Dípteros e Himenopteros y sus estados larvarios, lo que probablemente explique el comportamiento de mayor preferencia química por la larva del escarabajo (“gallinita”) en mi experimento, aun así la intensidad de este comportamiento no es tan alta como con *C. biserialis*. Los Coleópteros se han reportado como presas importantes en serpientes (Cobb, 2004). Sin embargo los escarabajos probablemente no sean el alimento más preferido en el hábitat de *C. nasus* y quizás las arañas estén jugando un papel trófico más importante. Desconozco la abundancia, tipos y disposición total de presas invertebradas en las zonas de colecta de las serpientes *Conopsis*, por lo que sería interesante

evaluar su respuesta quimiosensorial a estímulos químicos de estas presas invertebradas terrestres en sus fases larvarias y adultas.

La situación simpátrica de estas dos serpientes quizás las lleva a dividir los recursos alimenticios para evitar un traslape trófico (eg. Luiselli, 2006) sin embargo desconocemos la abundancia y disposición de presas en su ambiente. Si las dietas cambian en función de la disponibilidad o escases de alimento (Santos et al., 2000) las respuesta quimiosensoriales también lo hacen (Cooper, 2008) y estos pueden ser considerados mecanismos de plasticidad fenotípica a procesos cambiantes de su medio natural. Otras serpientes simpátricas de tamaño pequeño con hábitos crípticos similares a *Conopsis* son los géneros *Rhadinaea* y *Diadophis* las cuales podrían competir por espacio y recursos con *Conopsis* sin embargo se desconoce mucho sus relaciones ecológicas, historias de vida y hábitos alimenticios.

### 6.3. Conducta alimentaria

A diferencia de las serpientes de la familia boidae que localizan y capturan rápido a presas ágiles como ratones pero que son lentas deglutiéndolas (Scartozzoni y Molina 2004), las serpientes *Conopsis* son más lentas capturando presas ágiles como grillos sin embargo son rápidas ingiriéndolos ya que no desarrollan constricción para matar a sus presas como lo hacen las boas, lo cual les confiere un ahorro de tiempo y energía. La zona preferencial de ataque de las boas es la cabeza del ratón (Scartozzoni y Molina 2004) mientras que en las serpientes *Conopsis* es el dorso (en medio) o en la zona posterior de la presa. Esto posiblemente tiene implicaciones de seguridad para la serpiente en caso de contraataques de la presa. Las cobras *Naja haje* según un estudio realizado por Kardong (1982) revela que atacaron a ratones por la zona posterior recibieron fuertes mordidas causando en muchos casos pérdida de interés por la presa, mientras que en las serpientes *Conopsis* es seguro atacar a los grillos por en medio o por atrás. *Conopsis biserialis* y *C. nasus* presentan una conducta alimentaria similar. Aunque *C. nasus* no se alimente de orugas, si logra ser ligeramente más hábil que *C. biserialis* para buscar y capturar grillos.

Considerando que los grillos (*Acheta domesticus*) y las larvas de lepidóptero (*Galleria melonella*) son alimento vivo producido en condiciones de laboratorio es

probablemente que no sean las mismas presas que ocurren en el hábitat de *C. biserialis*. Sin embargo, su interés por comer estas presas no nativas sugiere que *C. biserialis* quizás no sea selectiva sobre que especies de grillos o larvas de lepidópteros consumir. Estos resultados me llevan a preguntar ¿Qué tipo de quimioatrayentes son usados para identificar grillos y larvas de lepidópteros de otros tipos de presas invertebradas disponibles en el ambiente? también averiguar si las presas en su hábitat presentan estas mismas sustancias químicas ¿En qué proporción y cantidad?, de esta manera se ha investigado con una especie de serpiente reina *Regina septemvittata* (Jackrel y Reinert, 2011) y serpientes acuáticas *Thamnophis marcianus* (Wattiez et al. 1994) y *Thamnophis sirtalis* (Kirschenbaum et al., 1986; Burghardt et al., 1988) las cuales identifican a sus presas por medio del uso de fuertes quimioatrayentes.

Quizás debido al tratarse del mismo género, las serpientes *C. biserialis* y *C. nasus* presentan una conducta alimenticia similar a diferencia de las serpientes del grupo Dipsadini (*Dipsas*, *Sibon*, *Tropidodipsas* y *Sibynomorphus*) que pueden presentar una diversidad de conductas alimenticias y agruparse en clados según el grado de similitud de su conducta (Sheehy, 2012). Debería de estudiarse en un futuro los patrones de conductas alimenticias en los grupos externos (*Chilomeniscus*, *Ficimia*, *Gyalopion*, *Sympholis*, *Pseudoficimia* y *Stenorrhina*) del género *Conopsis* los cuales conforman la tribu o grupo Sonorini (Stickel, 1943) y así mismo poder descubrir si existen nuevas y diversas conductas alimenticias, esto podría ayudar en la búsqueda filogenética del género hermano de *Conopsis* (Goyenechea, 2009) mediante una aproximación en el análisis de sus conductas y caracteres morfológicos.

Es necesario tomar en cuenta algunas consideraciones durante los periodos de alimentación para el adecuado manejo y mantenimiento de los actuales objetos de investigación. Primero, las serpientes *Conopsis* deben ser mantenidas en contenedores pequeños y herméticamente cerrados. Segundo, deben ser alimentadas semanalmente con 4 a 8 grillos espolvoreados con calcio y vitaminas de preferencia. Tercero, mutilar una o dos extremidades a los grillos facilitará a la serpiente la búsqueda y captura de estos y su alimentación será más eficiente. Cuarto, limpiar los contenedores una vez al mes y cambiar los sustratos evitará que enfermen por parásitos, hongos u otras infecciones.

#### 6.4. Efecto de la dieta sobre la respuesta quimiosensorial

El efecto de la dieta reciente sobre las preferencias alimentarias de un depredador ha sido interpretado a través de modelos teórico-matemáticos en la ciencia de la ecología. Por un lado el modelo de conmutación (switching) el cual predice dos tipos de preferencias una fija y mantenida a pesar de la disposición existente de diferentes tipos de alimentos, y otra preferencia que cambia en función de la abundancia y disposición de otros alimentos que logran ser comunes en el ambiente (Begon et al., 2006). Se piensa que los depredadores al estar en presencia de alimento abundante desarrollan “imágenes de búsqueda” las cuales les ayudan a orientarse y concentrarse para identificar las características específicas del tipo de presa más común en su ambiente de la no presente o existente (Tinbergen, 1960). Por otro lado está el modelo del forrajeo óptimo que fue presentado originalmente por MacArthur y Pianka (1966), el cual en uno de sus postulados relacionado con nutrientes y energía predice que durante una limitación en nutrientes, la inclusión de un tipo de alimento en la dieta reciente podría tender a debilitar la preferencia por ese alimento (Stephen y Krebs, 1986). Para una serpiente cazadora al acecho *C. biserialis* que se orienta químicamente para reconocer a sus presas, quizás se esperaría que su respuesta quimiosensorial disminuyera (ejemplo: bajo TFAS) hacia alimentos nuevos en su reciente dieta, si se adopta el modelo de forrajeo óptimo con limitación en nutrientes. Contrariamente un alto TFAS hacia alimentos presentes en la reciente dieta sería el resultado esperado de ser considerado el modelo de conmutación. Para serpientes alimentadas con grillos yo registre un incremento en su TFAS hacia el olor de esas mismas presas. Esto quizás sea debido a que los ortópteros son una de sus presas preferidas en la naturaleza (Castañeda-González et al. 2011) o quizás este aumento sea mejorado debido al desarrollo de una imagen de búsqueda olfativa innata como se ha demostrado en serpientes de cascabel (Melcer y Chiszar, 1989). Sin embargo las serpientes alimentadas con larvas de lepidópteros no desataban un aumento en su TFAS hacia larvas de lepidóptero. Lo cual contradice por un lado el hecho de que una alimentación sobre una presa particular eleve la respuesta del depredador (Fuchs y Burghardt, 1971) o el efecto de la reciente dieta en el modelo de presa-conmutación de Stephen y Krebs (1986).

Mis resultados sugieren que la dieta reciente en cautiverio no tiene un efecto sobre la respuesta de *C. biserialis*, al menos en un escala de tiempo corto (<dos meses). Independientemente de su dieta reciente, los individuos alimentados con orugas, así como los alimentados con grillos presentaron una respuesta marcada hacia el olor de grillo, dicha respuesta no se debilitó y se mantuvo también en el grupo uno (GBIS1). Es difícil decidir a cuál de los dos modelos ecológicos se ajustarían estos resultados, quizás habría falta agregar otros alimentos en la dieta (naturales y no naturales) para evaluar si existe un efecto sobre la preferencia desde un espectro de opciones alimenticias más amplio. Los resultados de Cruz-Neto y Andrade (1993) del efecto de la dieta sobre la respuesta quimiosensorial de *Tupinambis teguixin*, tampoco logran sustentarse sobre alguna de las dos teorías propuestas. Eason (1990) registro un aumento en la respuesta quimiosensorial de *Chamaeleo senegalensis* hacia presas no recientemente frecuentes en su dieta sugiriendo que la conducta era debida a la restricción de nutrientes que presentaba el camaleón. Quizás los grillos sean presas con una mayor presencia en espacio y tiempo y posiblemente tengan un mayor valor energético con respecto a las orugas que podrían ser un alimento con menos nutrientes, fácil de capturar pero efímero y fenológicamente marcado. Por lo que posiblemente la preferencia mostrada por la respuesta quimiosensorial de *C. biserialis* hacia grillos pueda cambiar de acuerdo a la disponibilidad y abundancia de presas en su medio natural. Otra posibilidad es que haya un cambio en su preferencia debido a una necesidad fija de acceder siempre a nutrientes esenciales en su dieta a pesar de disponibilidad de otras presas.

## 7. CONCLUSIONES

Las pequeñas serpientes fosoriales *Conopsis nasus* y *Conopsis biserialis* son capaces de identificar químicamente su alimento y discriminar entre las señales químicas de sus presas preferidas y no preferidas.

Existe una alta preferencia química por presas invertebradas como ortópteros, larvas de lepidóptero y coleóptero en la serpiente *Conopsis biserialis*.

La serpiente *Conopsis nasus* puede identificar químicamente a ortópteros y larvas de coleópteros como potenciales presas, pero su baja intensidad predatoria indica su poca preferencia.

La preferencia de las serpientes *C. biserialis* hacia los estímulos químicos de las presas es similar entre adultos y juveniles. El tamaño y edad de ambas serpientes *Conopsis* no está vinculado con su preferencia hacia estímulos químicos de invertebrados.

La intensidad de la respuesta depredadora es mayor en la serpiente *C. biserialis* que en la serpiente *C. nasus* y los olores de presas que provocaron un mayor interés de depredación fueron los invertebrados.

En cautiverio ambas especies tienen similares conductas de alimentación. La serpiente *C. nasus* solamente acepta alimentarse de grillos. La serpiente *C. biserialis* puede aceptarse alimentarse de grillos y larvas de lepidóptero (*Galleria melonella*).

No existe un efecto de la dieta en cautiverio sobre la conducta predatoria quimiosensorial de *C. biserialis*, al menos en estado adulto y en un lapso corto de tiempo.

Mis resultados sugieren que las dos especies de serpientes presentan diferencias en su conducta predatoria, lo que probablemente posibilita en parte la coexistencia de estas especies en la naturaleza.

Este estudio en ecología de la conducta predatoria de dos serpientes simpátricas del género *Conopsis* es la primera investigación elaborada para abordar y entender una de las muchas complejas relaciones presa-depredador entre estos taxos. Aportó valiosa información la cual podría respaldar un estudio completo de uso y selección de presas.

Este estudio también aporta información que puede servir para elaborar planes de manejo, mantenimiento y conservación a futuro de estas dos especies endémicas de México.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado-Díaz, J., I. Suazo-Ortuño, L. D. Wilson, and O. Medina-Aguilar. 2013. Patterns of physiographic distribution and conservation status of the herpetofauna of Michoacán, Mexico. *Amphibian and Reptile Conservation* 7(1): 128-170.
- Anderson, J.D. 1956. A blind snake preyed upon by a scorpion. *Herpetologica* 12:327.
- Arnold, S.J. 1978. Some effects of early experience on feeding responses in the common garter snake, *Thamnophis sirtalis*. *Anim. Behav.* 26:455-462.
- Arnold, S.J. 1981. Behavioral variation in natural populations. I. Phenotypic, genetic and environmental correlations between chemoreceptive responses to prey in the garter snake, *Thamnophis elegans*. *Evolution* 35:489-509.
- Arnold, S.J. 1992. Behavioural variation in natural populations: VI. Prey responses by two species of garter snakes in three regions of sympatry. *Anim Behav* 44:705-719.
- Aubret, F., G.M. Burghardt, S. Maumelat, X. Bonnet and D. Bradshaw. 2006. Feeding preferences in 2 disjunct populations of tiger snakes, *Notechis scutatus* (Elapidae). *Behavioral Ecology* 17:716-725.
- Bealor M.T. and C.O. Krekorian. 2002. Chemosensory Identification of Lizard-Eating Snakes in the Desert Iguana, *Dipsosaurus dorsalis* (Squamata: Iguanidae). *Journal of Herpetology* 1: 9-15.
- Begon, M., J.L. Harper and C.R. Townsend. 2006. Ecología: Individuos, poblaciones y comunidades. Fourth edition, Blackwell Scientific Publications.
- Bizerra, A.O. A.V. Marques, and I. Sazima. 2005. Reproduction and feeding of the colubrid snake *Tomodon dorsatus* from southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia* 26:33-38.
- Branch, W. R. 1975. *Duberria variegata*. *Herpetological Review* 6:20.
- Britt, E.J., J.W. Hicks and A.F. Bennett. 2006. The energetic consequences of dietary specialization in populations of the garter snake, *Thamnophis elegans*. *Journal of Experimental Biology* 209:3164-3169.
- Brown, E.E. 1979. Stray food records from New York and Michigan snakes. *The America Midland Naturalist* 102:200-203.

- Burghard, G.M. 1990. Chemically mediated predation in vertebrates: Diversity, ontogeny, and information. In: Chemical signals in vertebrates, Vol. 5 (Edited by Macdonald, W.D. Muller-Schwarze J. and F. Natynezuk). pp 475-499. *Oxford University Press*, Oxford. 1990.
- Burghardt, G.M. and E.H. Hess. 1986. Factors influencing the chemical release of prey attack in newborn snakes. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 2: 289-295.
- Burghardt, G.M. 1966. Stimulus control of the prey attack response in naive garter snakes. *Psychon. Sci.* 4: 37-38.
- Burghardt, G.M. 1967. Chemical cue preferences of inexperienced snakes: comparative aspects. *Science* 157: 718-721.
- Burghardt, G.M. 1968. Chemical preference studies on newborn snakes of three sympatric species of *Natrix*. *Copeia* 1968: 732-737.
- Burghardt, G.M. 1969. Prey-attack studies in newborn snakes of the genus *Thamnophis*. *Behaviour* 1/2: 77-114.
- Burghardt, G.M. 1970. Chemical perception in reptiles. In: Johnston JW Jr, Moulton DG, Turk A (eds) *Communication by chemical signals*. Appleton-Century-Crofts, New York, pp 241-308.
- Burghardt, G.M. 1980. Behavioral and stimulus correlates of vomeronasal functioning in reptiles: feeding, grouping, sex and tongue use. In D. Muller-Schwarze and R. M. Silverstein (eds.), *Chemical Signals. Vertebrate and Aquatic Invertebrates*, pp. 275-301. Plenum Press, New York.
- Burghardt, G.M., S.E. Goss and F.M. Schell. 1988. Comparison of earthworm- and fish-derived chemicals eliciting prey attack by garter snakes (*Thamnophis*). *Journal of Chemical Ecology*, 14:855-881.
- Canseco-Márquez, L. y M.G. Gutiérrez-Mayén. 2010. Anfibios y reptiles del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Fundación para la Reserva de la Biosfera Cuicatlán, A. C, y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Edición 2010. 302 p.

- Carranza, E.G. 2005. Descripción física y biótica (Vegetación). In La biodiversidad de Michoacán. Estudio de estado. Conabio. UMSNH. Morelia. 21-45 p.
- Castañeda-González, O., J. Manjarrez, I. Goyenechea and V. Fajardo. 2011. Ecology of a population of the earthsnake *Conopsis biserialis* in the Mexican Transvolcanic Axis. *Herpetological Conservation and Biology* 3: 364-371..
- Chiszar, D., R.K.K. Lee, H.M. Smith and C.W. Radcliffe. 1992. Searching behaviors by rattlesnakes following predatory strikes. *Biology of the pit vipers* (Campbell JA, Brodie ED Jr, eds). Tyler, Texas: Selva; 369-382.
- Chiszar, D., S.V. Taylor, C.W. Radcliffe, H.M. Smith and B. O'Connell. 1981. Effects of chemical and visual stimuli upon chemosensory searching by Garter Snake and Rattlesnakes. *J. Herpetol.* 15: 415-424.
- Clark, R.W. and G. Ramirez. 2011. Rosy boas (*Lichanura trivirgata*) use chemical cues to identify female mice (*Mus musculus*) with litters of dependent young. *Herpetological Journal* 21: 187-191.
- Cobb, V.A. 2004. Diet and prey size of the flathead snake, *Tantilla gracilis*. *Copeia*, (2), 397-402.
- Coleman, S.III.M. 2012. Phylogenetic relationships and feeding behavior of neotropical snail-eating snakes (dipsadinae, dipsadini). Faculty of the Graduate School, University of Texas at Arlington, Thesis doctoral 1-126 pp.
- Cook, S.F. JR. 1960. On the occurrence and life history of *Contia tenuis*. *Herpetologica* 16:163-73.
- Cooper, W.E., JR. 1991. Responses to prey chemicals by a lacertid lizard, *Polaris muralis*: Prey chemical discrimination and poststrike elevation in tongue-flick rate. *J. Chem. Ecol.* 17:849-863
- Cooper, W.E Jr. and G.M. Burghardt. 1990a. A comparative analysis of scoring methods for chemical discrimination of prey by squamate reptiles. *J. Chem. Ecol.* 16:45-65.
- Cooper, W.E. Jr. 1989a. Absence of prey odor discrimination by iguanid and agamid lizards in applicator tests. *Copeia* 1989: 472-478.
- Cooper, W.E. Jr. 1989b. Prey odor discrimination in the varanoid lizards *Heloderma suspectum* and *Varanus exanthematicus*. *Ethology* 81: 250-258.

- Cooper, W.E. Jr. 1990. Prey odor detection by teiid and lacertid lizards and the relationship of prey odor detection to foraging mode in lizard families. *Copeia* 1990: 237-242.
- Cooper, W.E. Jr. 1995. Foraging mode, prey chemical discrimination, and phylogeny in lizards. *Anim. Behav.* 50: 973-985.
- Cooper, W.E. Jr. 2003. Foraging mode and evolution of strike-induced chemosensory searching in lizards. *Journal of Chemical Ecology* 29: 1013-1026.
- Cooper, W.E. Jr. 2008. Tandem evolution of diet and chemosensory responses in snakes. *Amphibia-Reptilia* 29: 393-398.
- Cooper, W.E. Jr. and a S. Secor. 2007. Strong response to anuran chemical cues by an extreme dietary specialist, the eastern hog-nosed snake (*Heterodon platirhinos*). *Can. J. Zool.* 85: 619-625.
- Cooper, W.E. Jr. and G.M. Burghardt. 1990b. Vomeroolfaction and vomodor. *J Chem Ecol* 16: 103-105.
- Cooper, W.E. Jr. and Sherbrooke W.C. 2009. Prey Chemical Discrimination by Tongue Flicking Is Absent in the Texas Horned Lizard, *Phrynosoma cornutum*. *Journal of Herpetology*. 4: 688-692.
- Cooper, W.E., G.M. Burghardt, and W.S. Brown. 2000. Behavioral responses by hatchling racers (*Coluber constrictor*) from two geographically distinct populations to stimuli from prey and predators. *Amphibia-Reptilia* 21:103-115.
- Cooper, W.E., Jr. 1994. Prey chemical discrimination, foraging mode, and phylogeny. In *Lizard ecology: historical and experimental perspectives*. Edited by L.J. Vitt and E.R. Pianka. Princeton University Press, Princeton, N.J. pp. 95-116.
- Cooper, W.E., Jr., Burghardt, G.M., and Brown, W.S. 2000. Behavioural responses by hatchling racers (*Coluber constrictor*) from two geographically distinct populations to chemical stimuli from prey and predators. *Amphib.-Reptilia*, 21: 103–115.
- Cooper, W.E., Jr., Buth, D.G. and L.J. Vitt. 1990. Prey odor discrimination by ingestively naive coachwhip snakes (*Masticophis flagellum*). *Chemoecology*, 1: 86–91.
- Coss, R.G., K.L. Guse, N.S. Poran and D.G. Smith.1993. Development of antisnake defenses in California ground squirrels (*Spermophilus beecheyi*): II.

- Microevolutionary effects of relaxed selection from rattlesnakes. *Behaviour* 124:137-162.
- Crawley, M.J. 2007. Proportion data. *Statistics: an introduction using R*, 247-262.
- Cruz-Neto, A.P. And D.V. Andrade. 1993. The Effect of Recent Diet on Prey Odor Discrimination by Juvenile Tegu Lizard, *Tupinambis teguixin* (Sauria, Teiidae). *Zool. Anz.* 230:123-129.
- Darling, D. 1947. Northwestern herpetology contributions. *Herpetologica* 4:28.
- Desfilis, E. y E. Font. 2002. Efectos de la experiencia sobre el comportamiento depredador de los reptiles. *Revista Española de Herpetología* 2002:79-94.
- Dial, B.E. and K. Schwenk. 1996. Olfaction and Predator Detection in *Coleonyx brevis* (Squamata: Eublepharidae), With Comments on the Functional Significance of Buccal Pulsing in Geckos. *The journal of experimental zoology* 276: 415-424.
- Drummond, H. 1985. The role of vision in the predatory behaviour of natricine snakes. *Anim. Behav.* 33: 206-215.
- Eason, P.K. 1990. The effect of recent diet on prey choice in senegalese chamaleons (*Chamaeleo senegalensis*) *J. Herptol.* 24: 383-387.
- Estrada-Virgen, A., and J. Alvarado-Díaz. 2003. *Conopsis biserialis* (Two Lined Mexican Earth Snake). Litter size. *Herpetological Review* 34:149.
- Fitch, H.S. 1970. Reproductive cycles in lizard and snakes. The University of Kansas. Museum of Natural History Miscellaneous Publications 52:1-247.
- Ford, N. and G.M. Burghardt. 1993. Perceptual mechanisms and the behavioral ecology of snakes. In: *Snakes: Ecology and Behavior* (Ed. by R. A. Seigel & J. T. Collins), pp. 117-164. New York: McGraw-Hill.
- Fox, W. 1952. Notes on feeding habits of Pacific Coast garter snakes. *Herpetologica* 8:4-8.
- Fuchs, J. and G.M. Burghardt. 1971. Effects of early feeding experience on the responses of garter snakes to food chemicals. *Learning and Motivation* 2:271-279.
- García-Balderas, C.M., G.E. Quintero-Díaz, C.R. Lucio-Palacio and D. Valdez-Jiménez. 2014. *Conopsis lineata*. Diet. *Herpetological Review* 45(2): 337.
- Götz, M. 2002. The feeding behavior of the snail-eating snake *Pareas carinatus* Wagler 1830 (Squamata: Colubridae). *Amphibia-Reptilia* 23:487-493.

- Goyenechea, I. 2009. Relaciones filogenéticas de las serpientes del género *Conopsis* con base en la morfología. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 80: 721-725.
- Goyenechea, I. and O. Flores-Villela. 2002. The taxonomic status of the snake genera *Conopsis* and *Toluca* (Colubridae). *Journal of Herpetology* 36: 92-95.
- Goyenechea, I. and O. Flores-Villela. 2006. Taxonomic summary of *Conopsis* Günther, 1858 (Serpentes: Colubridae). *Zootaxa* 1271: 1-27.
- Greenbaum, E. 2004. The influence of prey-scent stimuli on predatory behavior of the North American copperhead *Agkistrodon contortrix* (Serpentes: Viperidae). *Behavioral Ecology* 2:345-350.
- Greene, H.W. 1997. Snakes: The Evolution of Mystery in Nature. The University of California Press, Berkeley, California, USA.
- Greer, A.E. 1966. Viviparity and oviparity in the snake genera *Conopsis*, *Toluca*, *Gyalopion*, and *Ficimia*, with comments on *Tomodon* and *Helicops*. *Copeia* 2: 371-373..
- Halloy, M. and G.M. Burghardt. 1990. Ontogeny of fish capture and ingestion in four species of garter snakes (*Thamnophis*). *Behaviour*, 112, 299-317.
- Halpern, M. 1987. The organization and function of the vomeronasal system. *Annu. Rev. Neurosci.* 10, 325-362.
- Halpern, M. 1992. Nasal chemical senses in reptiles: structure and function. In: Gans C, Crews D (eds) *Biology of the reptilia: hormones, brain, and behavior*. University of Chicago Press, Chicago, pp 423-523.
- Halpern, M., 1980. The telencephalon of snakes. In: Ebbesson, S.O.E. (Ed.), *Comparative Neurology of the Telencephalon*. Plenum Press, New York, pp. 257-294.
- Halpern, M., 1983. Nasal chemical senses in snakes. *In advances in vertebrate Neuroethology*, ed. J.-P. Ewert, R.R. Capranica, D.J. Ingle, pp. 141-76. New York: plenum.
- Hammerson G, 1999. Amphibians and Reptiles in Colorado. Niwot, CO: *University Press of Colorado and Colorado Division of Wildlife*.
- Harvey, M.B., G.R. Fuenmayor, J.R. Caicedo Portilla, and J.V. Rueda-Almonacid. 2008. Systematics of the enigmatic dipsadine snake *Tropidodipsas perijanensis* Alemán

- (Serpentes: Colubridae) and review of morphological characters of Dipsadini. *Herpetological Monographs* 22:106-132.
- Hennessy, D.F., and Owings, D.H. 1988. Rattlesnakes create context for localizing their search for potential prey. *Ethology*, 77: 317-329.
- Hetherington, T.E. 1989. Use of vibratory cues for detection of insect prey by the sandswimming lizard *Scincus scincus*. *Anim. Behav.* 37:290-297
- Jackrel, S.L. and H.K. Reinert. 2011. Behavioral responses of a dietary specialist, the Queen snake (*Regina septemvittata*), to potential chemoattractants released by its prey. *Journal of Herpetology* 45:272-276.
- Jiang, X.C., J. Inouchi, D Wang and M. Halpern. 1990. Purification and characterization of a chemoattractant from electric shock-induced earthworm secretion, its receptor binding, and signal transduction through the vomeronasal system of garter snakes. *The Journal of Biological Chemistry*, 265: 8736-8744.
- Juárez-Escamilla, J.D. and A. Ramírez-Bautista. 2013. A new record of litter size of the endemic snake *Conopsis nasus* Günther, 1858 (Ophidia, Colubridae) from Hidalgo, Mexico. *Herpetology Notes* 6: 569-570.
- Kardong, K.V. 1982. Comparative study of changes in prey capture behavior of the Cottonmouth (*Agkistrodon piscivorus*) and Egyptian Cobra (*Naja haje*). *Copeia*, 337-343.
- Kardong, K.V. and T.L. Smith. 2002. Proximate factors involved in rattlesnake predatory behavior: a review. *Biology of the vipers* (Schuett GW, Höggren M, Douglas ME, Greene HW, eds). Eagle Mountain, Utah: Eagle Mountain Publishing; 253-266.
- Kirschenbaum, D.M., N. Schulman, and M. Halpern. 1986. Earthworms produce a collagen like substance detected by the garter snake vomeronasal system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83:1213-1216.
- Lind, A.J. and H.H., Jr., Welsh. 1994. Ontogenetic changes in foraging behaviour and habitat use by the Oregon garter snake, *Thamnophis atratus hydrophilus*. *Anim. Behav.* 48:1261-1273.

- Loop, M.S. 1970. The effects of feeding experience on the response to prey-object extracts in rat snakes. *Psychonomic Science* 21:189-190.
- López, P. 2002. Comunicación intraespecífica en reptiles mediante señales químicas: La utilización de señales fiables para decidir comportamientos. *Rev. Esp. Herp.* 49-59.
- Luiselli, L. 2006. Resource partitioning and interspecific competition in snakes: the search for general geographic and guild patterns. *Oikos* 114:193-211.
- MacArthur, R.H. and E.R. Pianka. 1966. On optimal use of a patchy environment. *American Naturalist*, 100, 603-609.
- Mason, M.J., and Narins, P.M. 2001. Seismic signal use by fossorial mammals. *American Zoologist*, 41(5), 1171-1184.
- Mason, R.T. 1992. Reptilian pheromones. In: Gans C, Crews D (eds) *Biology of the reptilia: hormones, brain, and behavior*. University of Chicago Press, Chicago, pp 114-128.
- Mason, R.T. and Parker M.R. 2010. Social behavior and pheromonal communication in reptiles. *Comp Physiol A* 196: 729-749.
- Melcer, T., and Chiszar, D. 1989. Striking prey creates a specific chemical search image in rattlesnakes. *Animal Behaviour*, 37, 477-486.
- Minton, S.A Jr. and B. Minton de Cervantes. 1977. Observations on the snake of Querétaro, México. *Bulletin of Chicago Herpetological Society*. 12 (3): 69-74.
- Moron, M.A. 2003. Diversidad, distribución e importancia de las especies Phyllophaga Harris en México (Coleoptera: Melonthidae). Estudios sobre coleópteros del suelo en América. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.
- Mullin, S.J., H. Imbert, J.M. Fish, E.L. Ervin and R.N. Fisher. 2004. Snake (colubridae: *Thamnophis*) predatory responses to chemical cues from native and introduced prey species. *The Southwestern Naturalist* 49:449-456.
- Noble, G.K. and H.J. Clausen. 1936. The aggregation behavior of *Storeria dekayi* and other snakes with especial reference to the sense organs involved. *Ecol. Monogr.* 6: 269-316.
- Owings, D.H. and R.G. Coss. 1977. Snake mobbing by California ground squirrels: Adaptive variation and ontogeny. *Behaviour* 62:50-68.

- Ramírez Bautista, A. y M.C. Arizmendi. 2004. *Conopsis biserialis*. Sistemática e historia natural de algunos anfibios y reptiles de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos (UBIPRO), Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto W013. México. D.F.
- Ramírez-Bautista, A., G. Gutiérrez-Mayen, and A. González-Romero. 1995. Clutch size in a community of snakes from the Mountains of the Valley of México. *Herpetological Review* 26:12.
- Ramírez-Bautista, A., U. Hernández-Salinas, R. Cruz-Elizalde, C. Berriozabal-Islas, D. Lara-Tufiño, I.G. Mayer-Goyenechea y J.M. Castillo-Cerón. 2014. Los Anfibios y Reptiles de Hidalgo, México: Diversidad, Biogeografía y Conservación. Sociedad Herpetológica Mexicana A.C. Pachuca, Hidalgo, México. 376 pp.
- Rodriguez-Robles, J. A., D. G. Mulcahy, and H. W. Greene. 1999. Dietary ecology of the Desert Nightsnake (*Hypsiglena torquata*). *Copeia* 1999:93-100.
- Rossman, D.A. and P.A. Myer. 1990. Behavioral and morphological adaptations for snail extraction in the North American brown snakes (Genus *Storeria*). *Journal of Herpetology* 24:434-438.
- Rossman, D.A., N.B. Ford, and R.A. Seigel. 1996. The Garter Snakes: *Evolution and Ecology*. Univ. Oklahoma Press, Norman.
- Roth, E.D. and J.A. Johnson. 2004. Size-based variation in antipredator behavior within a snake (*Agkistrodon piscivorus*) population. *Behavioral Ecology* 15 (2): 365-370.
- Santos, X., J. Gonzales-Solis, and G.A. Llorente. 2000. Variation in the diet of the viperine snake *Natrix maura* in relation to prey availability. *Ecography* 23:185-192.
- Saviola, A.J., D. Chiszar and S.P. Mackessy. 2012a. Ontogenetic shift in response to prey-derived chemical cues in prairie rattlesnakes *Crotalus viridis viridis*. *Current Zoology* 4: 549-555.
- Saviola, A.J., D. Chiszar, M.T. Bealor and H.M. Smith. 2010. Response of Western Diamond back Rattlesnakes (*Crotalus atrox*) to Chemical Cues of Mice (*Mus musculus*) of Different Genders and Reproductive Status. *The Psychological Record* 60: 217-226.

- Saviola, A.J., V. J. Mckenzie y D. Chiszar. 2012b. Chemosensory responses to chemical and visual stimuli in five species of colubrid snakes. *Acta Herpetologica* 7(1): 91-103.
- Saviola, A.J., W.E. Lamoreaux, R. Opferman y D. Chiszar. 2011. Chemosensory response of the threatened eastern indigo snake (*Drymarchon couperi*) to chemical and visual stimuli of *Mus musculus*. *Herpetological Conservation and Biology* 6(3):449-454.
- Sazima, I. 1989. Feeding behavior of the snail-eating snake, *Dipsas indica*. *Journal of Herpetology* 23:464-468.
- Scartozzoni, R.R., y Molina, F.D.B. 2004. Comportamento alimentar de *Boa constrictor*, *Epicrates cenchria* e *Corallus hortulanus* (Serpentes: Boidae) em cativeiro. *Revista de Etologia*, 6(1), 25-31.
- Schwenk, K. 1993. The evolution of chemoreception in squamata reptiles: A phylogenetic approach. *Brain Behav. Evol* 41: 124-137.
- Schwenk, K. 1995. Of tongues and noses: chemoreception in lizards and snakes. *Trends Ecol. Evol.* 11: 7-11.
- Schwenk, K. 2008. Comparative anatomy and Physiology of chemical senses in noavian aquatic reptiles. *Sensory evolution on the threshold adaptations in secondarily Aquatic vertebrates*. J.G.M. thewissen and S. Nummela (eds). Univ. Of California press, Berkeley. 65-81 pp.
- Semhan, R.V., M. Halloy and R. Montero. 2010. Chemical Prey Discrimination of Termites in *Amphisbaena heterozonata* (Reptilia: Squamata): A Learned Trait? *Journal of Herpetology* 44(3): 489-492.
- Shannon, P.J. y M. Carballo. 1996. Biología y control de *Phyllophaga* spp. Seminario Taller Centroamericano sobre la biología y control de *Phyllophaga* spp. Turriaba, Costa Rica, *Cattie* 277, pp 143.
- Smith, P .W. 1961. The amphibians and reptiles of Illinois. *Ill. Nat. Hist. Surv. Bull.* 28:1 298.
- Stephens, D.W. and J.R. Krebs. 1986. Foraging Theory. Princeton University Press, Princeton, NJ.

- Stickel, W.H. 1943. The Mexican snakes of the genera *Sonora* and *Chionactis* with notes on the status of other colubrid genera. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 56:109-128.
- Swaigood, R.R., Owings, D.H., and Rowe, M.P. 1999. Conflict and assessment in a predator-prey system: Ground squirrels versus rattlesnakes. *Animal Behavior*, 57: 1033-1044.
- Taylor, E.H. and H.M. Smith. 1942. The snake genera *Conopsis* and *Toluca*. *Kansas University Science Bulletin* 28: 325-363.
- Terrick, T.D., R.L. Mumme, and G.M. Burghardt. 1995. Aposematic coloration enhances chemosensory recognition of noxious prey in the Garter Snake *Thamnophis radix*. *Animal Behaviour* 49:857-866.
- Theodoratus, D.H., and D. Chiszar. 2000. Habitat selection and prey odor in the foraging behavior of Western rattlesnakes (*Crotalus viridis*). *Behaviour* 137:119-135.
- Tinbergen, L. 1960. The natural control of insects in pinewoods. 1: factors influencing the intensity of predation by songbirds. *Archives néerlandaises de Zoologie*, 13: 266-336.
- Uribe-Peña, Z., A. Ramírez-Bautista y G. Casas-Andreu. 1999. Anfibios y reptiles de las Serranías del D.F., México. Instituto de Biología, UNAM. México, D.F.
- Vásquez-Díaz, J. and G.E. Quintero-Díaz. 2007. *Conopsis nasus*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2013.2. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Downloaded on 08 April 2014.
- Vázquez-Díaz, J. y G. E. Quintero-Díaz. 2005. Anfibios y reptiles de Aguascalientes. *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*.
- Vitt, L.J. and J.P. Caldwell. 2009. Herpetology: An Introductory biology of amphibians and reptiles. 3rd ed. Academic Press is an Imprint of Elsevier, 697 pp.
- Wallach, V. 1995. Revalidation of the genus *Tropidodipsas* Günther, with notes on the Dipsadini and Nothopsini (Serpentes: Colubridae). *Journal of Herpetology* 29:476-481.
- Wattiez, R., C. Remy, P. Falmagne and G. Toubeau. 1994. Purification and preliminary characterization of a frog-derived proteinaceous chemoattractant eliciting prey

- attack by checkered garter snakes (*Thamnophis marcianus*). *Journal of Chemical Ecology* 20:1143-1160.
- Weaver, R.E. 2004. *Thamnophis elegans* (Western Terrestrial Gartersnake) predation. *Herpetological Review* 35:278.
- Weaver, R.E. 2010. Diet and reproductive ecology of the Desert Nightsnake in Central Washington State. *Journal of Herpetology* 44:148-152.
- Weaver, R.E. and K.V. Kardong. 2010. Behavioral responses to potential prey through chemoreception by the sharp-tailed snake (*Contia tenuis*). *Northwestern Naturalist* 91: 58-62.
- Weaver, R.E., W.H. Clark and D.C. McEwen. 2012. Prey Chemical Discrimination by the desert Night snake (*Hypsiglena Chlorophaea*): A comparison of invertebrate and vertebrate Prey. *Journal of Herpetology*. 4:523-526.
- Weldon, P.J. and F.M. Schell. 1984. Responses by king snakes (*Lampropeltis getulus*) to chemicals from colubrid and crotaline snakes. *Journal of Chemical Ecology* 10:1509-1520.
- Wilde, W.S. 1938. The role of Jacobson's organ in the feeding reaction of the common garter snakes (*Thamnophis sirtalis sirtalis*). *J. exp. Zool.* 77: 445-465.

**LITTER SIZE AND RELATIVE CLUTCH MASS OF THE EARTHSNAKES  
*CONOPSIS BISERIALIS* TAYLOR AND SMITH, 1942, AND *C. NASUS* GÜNTHER,  
1858 (SERPENTES: COLUBRIDAE) FROM THE CENTRAL MEXICAN  
TRANSVOLCANIC AXIS**

Ernesto Raya-García, Javier Alvarado-Díaz & Ileri Suazo-Ortuño

*Laboratorio de Herpetología, Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales,  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Av. San Juanito Itzicuaró s/n, C.P.  
58337, Morelia Michoacán, México.*

Corresponding author: Javier Alvarado-Díaz, e-mail: [jvr.alvarado@gmail.com](mailto:jvr.alvarado@gmail.com)

**Abstract.** This study reports new information on litter size and relative clutch mass (RCM) of two species of fossorial snakes endemic to Mexico: *Conopsis biserialis* and *C. nasus*. On March 2014 one female of each species was collected in the central portion of the state of Michoacan in western Mexico. Subsequently, after 40 days since the date of collection the *C. biserialis* female gave birth to eight neonates and after 52 days, the *C. nasus* female gave birth to four neonates. The average snout-vent-length (SVL) and body mass (BM) of *C. biserialis* neonates was 83.6 mm and 1.2 g, respectively. The average SVL and BM of *C. nasus* neonates was 90 mm and 1.2 g, respectively. RCM was 0.39 for *C. biserialis* and 0.28 for *C. nasus*. The relatively high investment of available resources dedicated to reproduction (high to medium RCM) in these species is likely associated to their cryptic life style.

Being highly secretive, cryptic in coloration and infrequently active, most small fossorial snakes are poorly studied (How & Shine 1999, Goodyear & Pianka 2008). The colubrid genus *Conopsis* Günther, 1858 comprises six species (*C. biserialis*, *C. nasus*, *C. acuta*, *C. amphisticha*, *C. megalodon*, and *C. lineata*) of fossorial snakes that are endemic to México with a distribution ranging from the states of Chihuahua in the north to Oaxaca in the south (Goyenechea & Flores-Villela, 2006). All species are viviparous and relatively small (adults of all species range from 100 to 330 mm in snout-vent length). Populations of these

species occur mainly in pine and pine-oak forests, although they have also been collected in fir forests, xerophilous underbrush, submontane underbrush and deciduous forest, between ~1500 and 3200 m (Goyenechea & Flores-Villela 2006). Information about the biology and natural history of these species is markedly limited.

*Conopsis biserialis* and *C. nasus* are endemic to northern and central Mexico and to central and southern Mexico, respectively. Both species inhabit xeric scrub, pine-oak forest, and pine forest (Goyenechea & Flores-Villela 2006). Although the IUCN (2011) places both *C. biserialis* and *C. nasus* in the category of “Least Concern”, Mexican conservation laws (Diario Oficial de la Federación 2010) consider *C. biserialis* as “Threatened (Amenazada)” and *C. nasus* as “No status (No listada)”. Due to its degree of endemism and narrow ecological distribution, Wilson et al. (2013) consider both species at the high end of the medium level of vulnerability (Environmental Vulnerability Score [EVS] = 13 for *C. biserialis* and 11 for *C. nasus*, range of EVS: 3-9 for low vulnerability species; 10-13 for medium vulnerability species, and 14-20 for high vulnerability species). EVS is a measure developed by Wilson and McCranie (2004) to assess conservation status of herpetofauna’s species. Information on geographic distribution, ecological distribution and degree of human persecution is used to calculate reptiles’ EVS. *C. biserialis* in particular might be in decline over an important extension of its original range, apparently related to the destruction and fragmentation of its forest habitat in Central Mexico (Flores-Villela & Gerez 1994). The impact of habitat fragmentation on species with highly limited dispersal abilities, such as small, fossorial snakes may be one of the main threats for the survival of *Conopsis* species (Castañeda-González et al. 2011).

As most snakes with a fossorial life style, *C. biserialis* and *C. nasus* are poorly studied species (Castañeda-González et al. 2011). Most studies on these species cover taxonomic issues (Goyenechea & Flores-Villela 2006, Goyenechea 2009) and information about the biology and natural history of these species is notoriously scarce (Ramírez & Arizmendi 2004). In relation to reproduction, it is known that both species are viviparous, that mating takes place in burrows under rocks (Greene 1997) and that it occurs in the summer for *C. biserialis* (Fitch 1970) and in October and November for *C. nasus* (Greer 1966). Further information on reproduction of *C. biserialis* includes reports on litter size (LS) and relative clutch mass (RCM) by Estrada-Virgen & Alvarado-Díaz (2003) (LS = 4, RCM = 0.21, N =

1) and Castañeda-González et al. (2011) (LS = 4, RCM = 0.35, N = 1), and on litter size by Ramírez-Bautista et al. (1995) (average LS = 4.5, range = 2-8, N = 4) (Table 1). Further information on reproduction of *C. nasus* includes reports on litter size by Greer (1966) (average LS = 3.6, range = 1-6, N = 20), and by Juárez-Escamilla & Ramírez-Bautista (2013) (LS = 11, RCM = 0.42) (Table 1). The objective of the present study is to provide information on reproductive characteristics of *C. biserialis* and *C. nasus*. Specifically, our goal is to update the information on the limited existing data on litter size and relative clutch mass.

On 23 March 2014, in the locality of Ichaqueo, municipality of Morelia, Michoacán, México (19°56'86" N, 101°13'10" W; 2257 m elevation), a *C. biserialis* female was collected by O. Medina-Aguilar. This female presented a snout-vent-length (SVL) of 280 mm, and a body mass of 24 g. She was found at 11:00 am, under a rock in a pine-oak forest clearing. Air temperature and humidity were 24.8 °C and 32.8 %, respectively. On 18 March 2014 in the locality of Chiquimitio, municipality of Morelia, Michoacán, México (19°47'15.13" N, 101°17'27.10" W, 2045 m elevation), a *C. nasus* female was collected by M. Sosa-Reyes. Distance between collecting localities is ~ 28 km in straight line. Both snakes were collected under SEMARNAT permit No. FAUT-0113. The *C. nasus* female presented a SVL of 270 mm, and a body mass of 16.9 g. She was found at 10:30 under a rock in tropical deciduous forest (matorral subtropical). Subsequently, both females were maintained in captivity in the laboratory of herpetology of the Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, located at Morelia Michoacán, México at an altitude of 2000 m. They were housed in separate containers and maintained on a natural night-day cycle. The snakes had permanent access to a drinking bowl and were fed crickets (*Acheta domesticus*) ad libitum. After 40 days (02 May 2014) since the date of collection, the *C. biserialis* female gave birth to eight neonates (Fig. 1), and after 52 days (08 May 2014), the *C. nasus* female gave birth to four neonates (Fig. 2). After registering the length and weight of each neonate, mothers and neonates were released at the original site where the mothers were collected. The average SVL of *C. biserialis* neonates was 83.6 mm (range = 79-85 mm), tail length (TL) was 17.7 mm (range = 10-29 mm) and mean body mass was 1.2 g (range = 1.2-1.5 g) (Table 1). Litter mass was 10.1 g. The *C. biserialis* mother presented a body mass of 25.4 g before parturition and

15.3 g after parturition. The average SVL of *C. nasus* neonates was 90.0 mm (range = 85-100 mm), TL was 15.7 mm (range = 15-18 mm) and mean body mass was 1.2 g (range = 1.2-1.2 g) (Table 1). Litter mass was 4.8 g. The *C. nasus* mother presented a body mass of 16.9 g before parturition and 12.1 g after parturition.

The almost identical dates of birthing of the *C. biserialis* and *C. nasus* females reported in the present study suggests that at least in the study area located in the central Mexican Transvolcanic Axis, both species coincide in mating time (assuming gestation periods of similar duration). This result contrasts with reports of Fitch (1970) and Greer (1966) that indicate different mating times for these species. Markedly small sample sizes for these species might be the principal reason for these discrepancies and highlight the lack of information on reproduction and in general about the natural history of these snakes.

Following Seigel and Fitch (1984), relative clutch mass (RCM) was calculated as litter mass/female total mass before parturition. RCM value for the *C. biserialis* mother was 0.39 (10.1/25.4 g), and for the *C. nasus* mother RCM was 0.28 (4.8/16.9). Seigel & Fitch (1984) summarized data on the RCM of 106 populations of 97 species and subspecies of snakes, with RCM values ranging from 0.10 to 0.61. Only 20 populations (18%) presented RCM values equal or higher to 0.40. Therefore, the RCM registered in our study for *C. biserialis* (0.39) can be considered high, and medium for *C. nasus* (0.28). RCM has been frequently considered as an indirect operational estimate of reproductive effort (i.e., Shine 1992, Gerald & Miskell 2007). However, according to other authors (Vitt & Congdon 1978, Vitt & Price 1982) a high RCM value is not necessarily associated with a high reproductive effort, but it might be associated in squamates with cryptic escape behavior and sit-and-wait foraging mode. Therefore, it is not unexpected for *Conopsis* species to present medium to high values of RCM, considering that existing information suggests that they remain hidden under rocks or fallen trunks for long periods of time (Ramírez- Bautista & Arizmendi 2004), likely waiting at their refuges or moving short distances for the right kind of prey to be within striking distance. Therefore, it is feasible that energy that potentially might be used for prey search and escape from predation is instead invested in reproduction (Cooper et al. 1990). This strategy may be advantageous when snakes live in an environment with a high availability of good quality food resources. Ford & Seigel (1989) demonstrated the plasticity of snakes' litter size and mass in relation to the abundance and nutritional quality

of prey. The fossorial and secretive lifestyle of *C. biserialis* and *C. nasus*, in addition to their sit-and-wait hunting strategy presumably confer these snakes protection from potential predators. Therefore, the danger of predation associated to the effect of a heavy litter on female's locomotion may be markedly reduced by the lifestyle of these snakes.

In conclusion, our literature search yielded only three studies that presented information about litter size and / or RCM for *C. biserialis* and two for *C. nasus*. Therefore, ours is only the fourth study for *C. biserialis* and third for *C. nasus* reporting on these two important natural history traits. Pulling all studies to date, including ours there is data for only seven *C. biserialis* females, all with data on litter size, three with data on size and mass of neonates, and three with RCM information. For *C. nasus*, there is data for 22 females, all with data on litter size, and two with data on size and mass of neonates and on RCM. Table 1 summarizes information on litter size, neonate size and RCM from these studies. Considering that the information presented about reproduction on these species derives from small sample sizes, it must be considered preliminary and highlights the need for further studies on the reproduction and natural history of these poorly known endemic species.

### ***Acknowledgements***

We thank the Coordinación de Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo for funding of this study. Thanks to O. Medina-Aguilar and M. Sosa-Reyes for collection of individuals in the field. We thank SEMARNAT for issuing the collecting permits. The results of the present study are part of the professional thesis of the principal author, under the direction of J. Alvarado-Díaz.

### ***References***

- Castañeda-González, O. Manjarrez, J. I. Goyenechea & V. Fajardo (2011): Ecology of a population of the earthsnake *Conopsis biserialis* in the Mexican Transvolcanic Axis.- *Herpetological Conservation and Biology*, **3**: 364-371.
- Cooper, W. E. Jr., L. J. Vitt, R. Hedges & R. B. Huey (1990): Locomotor impairment and defense in gravid lizards (*Eumeces laticeps*): behavioral shift in activity may offset

- costs of reproduction in an active forager.- Behavioral Ecology and Sociobiology, **27**:153-157.
- Diario Oficial de la Federación (2010): Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo.
- Estrada-Virgen, A. & J. Alvarado-Díaz (2003): *Conopsis biserialis* (Two Lined Mexican Earth Snake). Litter size.- Herpetological Review, **34**: 149.
- Fitch, H. (1970): Reproductive cycles in lizards and snakes.- University of Kansas Museum of Natural History, Miscellaneous Publications, **52**: 1-247.
- Flores-Villela, O. & P. Gerez (1994): Biodiversidad y Conservación en México: Vertebrados, Vegetación y Uso del Suelo. CONABIO, UNAM. México D.F.
- Gerald, G. W. & C. A. Miskell (2007): Small litter size and relative clutch mass of northern watersnakes (*Nerodia sipedon sipedon*) in southwestern Ohio.- The Ohio Journal of Science, **107**:84-85.
- Goyenechea, I. (2009): Relaciones filogenéticas de las serpientes del género *Conopsis* con base en la morfología.-Revista Mexicana de la Biodiversidad, **80**:721-725.
- Goyenechea, I. & O. Flores-Villela (2006): Taxonomic summary of *Conopsis*, Günther, 1858 (Serpentes: Colubridae).- *Zootaxa*, **1271**: 1-27.
- Goodyear, S. E. & E. R. Pianka (2008): Sympatric ecology of five species of fossorial snakes (Elapidae) in Western Australia.- Journal of Herpetology, **42**:279-285.
- Greene, H.W. (1997): Snakes. The Evolution of Mystery in Nature. The University of California Press, Berkeley, California, USA.
- Greer, A. E. (1966): Viviparity and oviparity in the Snake Genera *Conopsis*, *Toluca*, *Gyalopion*, and *Ficimia*, with comments on *Tomodon* and *Helicops*.- Copeia **2**: 371-373.
- How, R. & R. Shine (1999): Ecological traits and conservation biology of five fossorial 'sand-swimming' snake species (*Simoselaps*: Elapidae) in South-Western Australia.- Journal of Zoology, **249**:269-282.
- IUCN. (2011): Guidelines for using the IUCN Red List categories and criteria. Available: [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org) [Accessed: 25 August 2014].

- Ford, N. B. & R. A. Seigel (1989): Phenotypic plasticity in reproductive traits: evidence from a viviparous snake.- *Ecology*, **70**: 1768-1774.
- Juárez-Escamilla, J. D. & A. Ramírez-Bautista (2013): A new record of litter size of the endemic snake *Conopsis nasus* Günther, 1858 (Ophidia, Colubridae) from Hidalgo, Mexico.- *Herpetology Notes*, **6**: 569-570.
- Ramírez- Bautista, A. & M. C. Arizmendi (2004): *Conopsis biserialis*. Sistemática e historia natural de algunos anfibios y reptiles de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos (UBIPRO), Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto W013. México. D.F.
- Ramírez-Bautista, A., G. Gutiérrez-Mayen & A. González-Romero (1995): Clutch size in a community of snakes from the Mountains of the Valley of México.- *Herpetological Review*, **26**: 12.
- Seigel, R.A. & H. S. Fitch (1984): Ecological patterns of relative clutch mass in snakes.- *Oecologia*, **61**: 293-301.
- Shine, R. (1992): Relative clutch mass and body shape in lizards and snakes: is reproductive investment constrained or optimized?- *Evolution*, **46**:828-833.
- Vitt, L. J. & J. D. Congdon (1978): Body shape, reproductive effort, and relative clutch mass in lizards: resolution of a paradox.- *American Naturalist*, **112**: 595-608.
- Vitt, L. J. & H. J. Price (1982): Ecological and evolutionary determinants of relative clutch mass in lizards.- *Herpetologica*, **38**:237-255.
- Wilson, L D. & Jr McCranie (2004): The conservation status of the herpetofauna of Honduras. *Amphibian and Reptile Conservation* **3**:6-33.
- Wilson, L. D., V. Mata-Silva & J. D. Johnson (2013): A conservation reassessment of the reptiles of Mexico based on the EVS measure.- *Amphibian and Reptile Conservation*, **7**:1-47.



Figure 1. Adult female *Conopsis biserialis* and neonates. Photo by Ernesto Raya-García.



Figure 2. Adult female *Conopsis nasus* and neonates. Photo by Ernesto Raya-García.

Table 1. Litter size, neonate size and mass, and relative clutch mass (RCM) of *Conopsis biserialis* and *C. nasus*. Average values are followed by range in parenthesis.

Species	No. females	No. neonates	Mean SVL Neonates (mm)	Mean Body Mass neonates (gr)	RCM	Source
<i>C. biserialis</i>	1	4	93 (82-101)	1.3 (1.3-1.3)	0.21	Estrada- Virgen 2003
<i>C. biserialis</i>	1	4	71 (68-75)	0.87 (0.8-0.9)	0.35	Castañeda-González et al. 2011
<i>C. biserialis</i>	4	4.5 (2-8)	_____	_____	_____	Ramírez Bautista et al. 1995
<i>C. biserialis</i>	1	8	83.6 (79-85)	1.2 (1.2-1.5)	0.39	This study
<i>C. nasus</i>	20	3.6(1-6)	_____	_____	_____	Greer 1966
<i>C. nasus</i>	1	11	84.2(77.3-90.8)	0.78 (0.60-0.97)	0.42	Juárez & Ramírez-Bautista 2013
<i>C. nasus</i>	1	4	90(85-100)	1.2(1.2-1.2)	0.28	This study

## DISCUSIÓN GENERAL

Existen escasas investigaciones sobre las capacidades quimiosensoriales en serpientes pequeñas y con hábitos crípticos. Los resultados de esta investigación sobre percepción química en las serpientes *Conopsis* son similares con los resultados reportados por Weaver y Kardong (2010) para una especie de serpiente *Contia tenuis* con características similares a las serpientes *Conopsis biserialis*, sin embargo, *Contia tenuis* tiene una respuesta quimiosensorial mas dirigida hacia babosas y *Conopsis biserialis* tiene una respuesta quimiosensorial mas dirigida hacia estados larvarios de lepidópteros y escarabajos.

Los resultados en esta área de investigación en ecología de la conducta con ofidios muestran la presencia de la habilidad para discriminar y preferir entre presas de vertebrados e invertebrados en las pequeñas serpientes *Conopsis*. Mis resultados son similares con las habilidades reportadas por Weaver et al. (2012) para las serpientes adultas y juveniles ojo de gato *Hypsiglena chlorophaea* que pueden discriminar entre presas de vertebrados e invertebrados, sin aparente diferencia entre estados ontogenéticos. Por otro lado, mis resultados son diferentes y contrastantes a los de Weaver debido a que las preferencias quimiosensoriales de *H. chlorophaea* están dirigidas hacia las presas de vertebrados, especialmente otras serpientes, y poca o nula respuesta hacia presa invertebradas.

A diferencia de las serpientes de la familia boidae que localizan y capturan rápido a presas ágiles como ratones pero que son lentas deglutiéndolas (Scartozzoni y Molina 2004), las serpientes *Conopsis* son más lentas capturando presas ágiles como grillos sin embargo son rápidas ingiriéndolos ya que no desarrollan constricción para matar a sus presas como lo hacen las boas, lo cual les confiere un ahorro de tiempo y energía. La zona preferencial de ataque de las boas es la cabeza del ratón (Scartozzoni y Molina 2004) mientras que en las serpientes *Conopsis* es el dorso (en medio) o en la zona posterior de la presa. Las cobras *Naja haje* según un estudio realizado por Kardong (1982) revela que atacaron a ratones por la zona posterior recibieron fuertes mordidas causando en muchos casos perdida de interés por la presa, mientras que en las serpientes *Conopsis* es seguro atacar a los grillos por en medio o por atrás.

El efecto de la dieta reciente sobre las preferencias alimentarias de un depredador ha sido interpretado a través de modelos teórico-matemáticos en la ciencia de la ecología. Por

un lado el modelo de conmutación (switching) el cual predice dos tipos de preferencias una fija y mantenida a pesar de la disposición existente de diferentes tipos de alimentos, y otra preferencia que cambia en función de la abundancia y disposición de otros alimentos que logran ser comunes en el ambiente (Begon et al., 2006). Por otro lado está el modelo del forrajeo óptimo que fue presentado originalmente por MacArthur y Pianka (1966), el cual en uno de sus postulados relacionado con nutrientes y energía predice que durante una limitación en nutrientes, la inclusión de un tipo de alimento en la dieta reciente podría tender a debilitar la preferencia por ese alimento (Stephen y Krebs, 1986). Para serpientes alimentadas con grillos yo registre un incremento en su TFAS hacia el olor de esas mismas presas. Esto quizás sea debido a que los ortópteros son una de sus presas preferidas en la naturaleza (Castañeda-González et al. 2011) o quizás este aumento sea mejorado debido al desarrollo de una imagen de búsqueda olfativa innata como se ha demostrado en serpientes de cascabel (Melcer y Chiszar, 1989). Sin embargo las serpientes alimentadas con larvas de lepidópteros no desataban un aumento en su TFAS hacia larvas de lepidóptero. Lo cual contradice por un lado el hecho de que una alimentación sobre una presa particular eleve la respuesta del depredador (Fuchs y Burghardt, 1971) o el efecto de la reciente dieta en el modelo de presa-conmutación de Stephen y Krebs (1986).

Las fechas casi idénticas del parto de las hembras *C. biserialis* y *C. nasus* reportadas en el presente estudio sugiere que al menos en el área de estudio, ambas especies coinciden en el tiempo de apareamiento (suponiendo períodos de gestación de duración similar). Este resultado contrasta con los informes de Fitch (1970) y Greer (1966) que indican diferentes momentos de apareamiento de estas especies. Siguiendo a Seigel and Fitch (1984), el RCM (Masa relativa de camada) registrada en este estudio para *C. biserialis* se puede considerar alto y medio para *C. nasus*. Se piensa que estos valores están asociados con el esfuerzo reproductivo (Gerald & Miskell 2007). Sin embargo, según otros autores (Vitt y Congdon 1978, Vitt y Precio 1982) un alto valor de RCM no está necesariamente asociada con un alto esfuerzo reproductivo, pero podría estar asociada con el comportamiento de escape críptico y modo de forrajeo sit-and-wait. Por lo tanto, es factible que la energía que potencialmente pudiera utilizarse para la búsqueda de las presas y escapar de la depredación, en su lugar se invirtió en la reproducción (Cooper et al. 1990).